

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480013538.0

[51] Int. Cl.

A61K 31/47 (2006.01)

A61K 31/473 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 39/04 (2006.01)

A61P 39/06 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 6 月 21 日

[11] 公开号 CN 1791408A

[22] 申请日 2004.4.2

[21] 申请号 200480013538.0

[30] 优先权

[32] 2003.4.3 [33] US [31] 60/460,155

[86] 国际申请 PCT/AU2004/000427 2004.4.2

[87] 国际公布 WO2004/087160 英 2004.10.14

[85] 进入国家阶段日期 2005.11.17

[71] 申请人 普拉纳生物技术有限公司

地址 澳大利亚维多利亚

[72] 发明人 C·L·马斯特斯 R·A·彻尼

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商
标事务所

代理人 李 瑛

权利要求书 24 页 说明书 55 页 附图 3 页

[54] 发明名称

神经系统疾病的治疗

[57] 摘要

本发明总体上涉及治疗与氧化应力相关的或由氧化应力加重的疾病和/或紊乱，而且其具有包括认知机能障碍例如初步 - 或轻微认知机能障碍或记忆丧失的症状。用于实施本发明的药剂和方法能调节而且尤其能降低反应性氧的水平，从而最小化氧化应力。本发明进一步地提供了用于治疗和/或预防神经系统疾病，尤其是那些与氧化应力相关的或由氧化应力促进的疾病的方法和药剂。这里所指的神经系统紊乱包括导致认知机能障碍如初步 - 或轻微认知机能障碍或记忆丧失的任何疾病。本发明因此提供了用于治疗，改善认知机能障碍的症状和/或抑制认知机能障碍如初步 - 或轻微认知或记忆丧失的方法和药剂。

1. 一种用于预防和/或治疗个体中与氧化应力相关的或由氧化应力加重的疾病或紊乱和与包括认知机能障碍或记忆损失的症状相关的疾病或紊乱的方法，所述方法包括对所述个体施用有效量的药剂，该药剂能降低活性氧种类的水平。

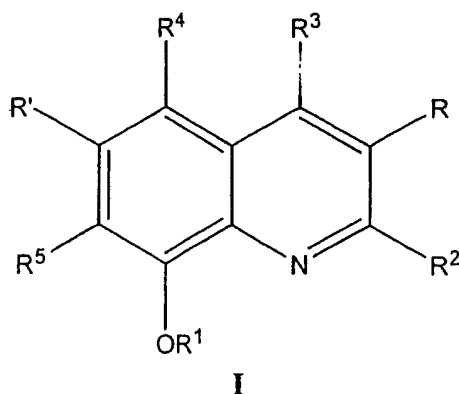
2. 权利要求 1 的方法，其中所述疾病或紊乱是神经系统疾病或紊乱。

3. 权利要求 1 或 2 的方法，其中所述药剂是金属结合剂。

4. 权利要求 3 的方法，其中该药剂能调节血浆锌和/或铜的水平。

5. 权利要求 3 的方法，其中所述金属结合剂是 8-羟基喹诺酮或氯碘羟喹 (CQ) 或其衍生物，同系物，类似物，化学等同物或模拟物。

6. 权利要求 5 的方法，其中 CQ 为式 I：



其中：

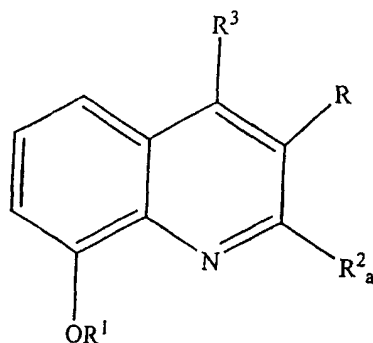
R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

R^2 是 H; 任选取代的烷基; 任选取代的烯基; 任选取代的芳基; 任选取代的杂环基; 任选取代的烷氧基; 抗氧化剂; 靶向部分; COR^6 或 CSR^6 , 其中 R^6 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 羟基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂, 靶向部分, OR^7 , SR^7 或 NR^7R^8 , 其中 R^7 和 R^8 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基; CN ; $CH_2NR^9R^{10}$, $HCONR^9$ 或 $HCONNR^9R^{10}$, 其中 R^9 和 R^{10} 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基; OR^{11} , SR^{11} 或 $NR^{11}R^{12}$, 其中 R^{11} 和 R^{12} 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基或共同形成任选取代的杂环基; 或 $SO_2NR^{13}R^{14}$, 其中 R^{13} 和 R^{14} 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; 并且

R^3 , R^4 , R^5 , R 和 R' 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羟基, 烷基氨基, 烷基硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基, 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分,

附带条件是, 当 R^1 到 R^3 , R 和 R' 是 H 时, 则 R^4 不是 Cl 而且 R^5 不是 I。

7. 权利要求 5 的方法, 其中 CQ 为式 Ia:



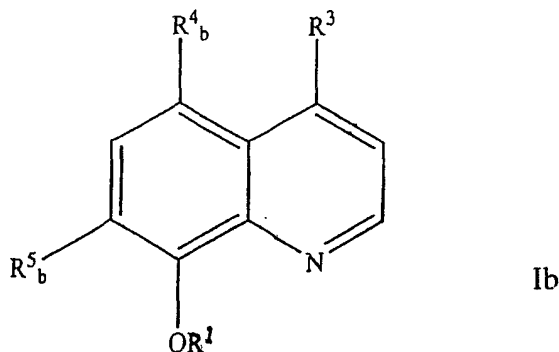
其中:

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

R^3 和 R 是相同的或者不同的, 而且选自 H; 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羟基, 烷基氨基, 烷硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基; 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分; 并且

R^2a 是 H; 任选取代的 C_{1-6} 烷基; 任选取代的 C_{1-6} 烯基, 任选取代的芳基; 任选取代的杂环基; 抗氧化剂; 靶向部分; COR^6a 或 CSR^6a , 其中 R^6a 是 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代 C_{2-6} 烯基, 羟基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基或 OR^7a , SR^7a 或 NR^7aR^8a , 其中 R^7a 和 R^8a 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基; CN ; $CH_2NR^9aR^{10}a$, $HCNOR^9a$ 或 $HCNNR^9aR^{10}a$, 其中 R^9a 和 $R^{10}a$ 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基; $OR^{11}a$, $SR^{11}a$ 或 $NR^{11}aR^{12}a$, 其中 $R^{11}a$ 和 $R^{12}a$ 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基或共同形成任选取代的杂环基; 或 $SO_2NR^{13}aR^{14}a$, 其中 $R^{13}a$ 和 $R^{14}a$ 是相同的或不同的, 而且选自 H 或任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

8. 权利要求 5 的方法, 其中 CQ 为式 Ib:



其中：

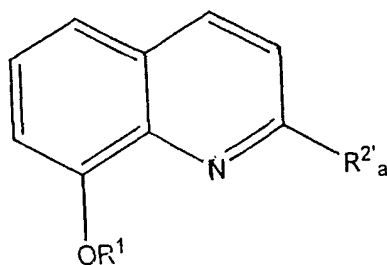
R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

R^3 是相同的或者不同的, 而且选自 H; 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羟基, 烷基氨基, 烷硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基; 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分; 并且

R^{4b} 和 R^{5b} 是相同的或不同的, 而且选自 H; 任选取代的 C_{1-6} 烷基; 任选取代的 C_{2-6} 烯基; 卤素; 抗氧化剂; 靶向部分, SO_3H ; $SO_2NR^{13a}R^{14a}$, 其中 R^{13a} 和 R^{14a} 如上述式 Ia 中所限定的; 或 OR^{15b} , SR^{15b} 或 $NR^{15b}R^{16b}$, 其中 R^{15b} 和 R^{16b} 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的 C_{1-6} 酰基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基,

附带条件是, 当 R^1 和 R^3 是 H 时, 则 R^{4b} 不是 Cl 而且 R^{5b} 不是 I。

9. 权利要求 7 的方法, 其中 Ia 为式 IIa:



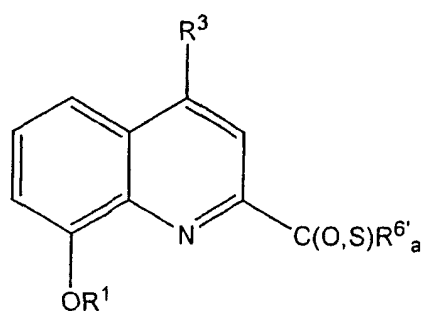
IIa

其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

$R^{2'a}$ 是任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基。

10. 权利要求 7 的方法, 其中 Ia 为式 IIIa:



IIIa

其中：

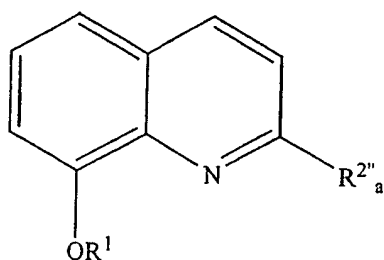
R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

R^3 是相同的或者不同的, 而且选自 H; 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羟基, 烷基氨基, 烷硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基, 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分; 并且

$R^{6'a}$ 是任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 羟基, 或 $OR^{7'a}$,

$SR^{7'a}$, $N_2R^{7'a}R^{8'a}$ 或 $NR^{7'a}R^{8'a}$, 其中 $R^{7'a}$ 和 $R^{8'a}$ 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

11. 权利要求 5 的方法, 其中 CQ 为式 IVa:



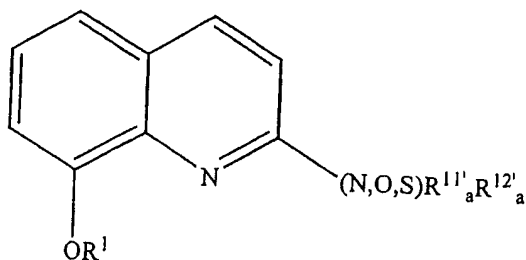
IVa

其中:

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

$R^{2'a}$ 是 CN; $CH_2NR^{9'a}R^{10'a}$, $HCNOR^{9'a}$ 或 $HCNNR^{9'a}R^{10'a}$, 其中 $R^{9'a}$ 和 $R^{10'a}$ 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

12. 权利要求 5 的方法, 其中 CQ 为式 Va;



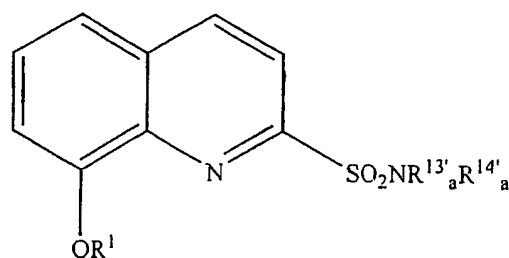
Va

其中:

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

$R^{11'a}$ 和 $R^{12'a}$ 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基和任选取代的杂环基或者共同形成任选取代的杂环基。

13. 权利要求 5 的方法, 其中 CQ 为式 VIa;



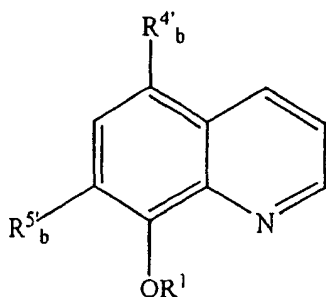
VIa

其中:

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

$R^{13'a}$ 和 $R^{14'a}$ 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

14. 权利要求 8 的方法, 其中 Ib 为式 IIb;



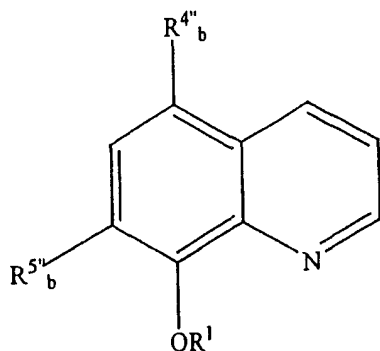
IIb

其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

$R^{4'}$ 和 $R^{5'}$ 是相同的或不同的, 而且选自卤素, C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 烯基, 胺, SO_3H , 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

15. 权利要求 8 的方法, 其中 Ib 为式 IIIb;



IIIb

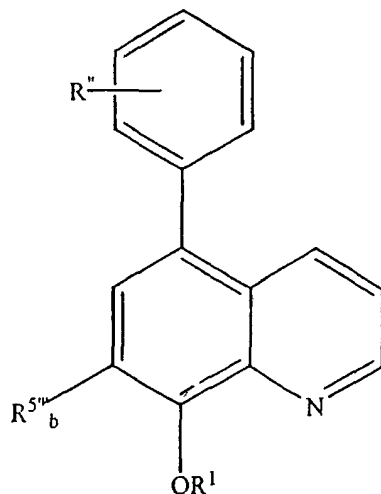
其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

$R^{4''}$ 是 H 或卤素; 并且

R^{5b} 是任选取代的芳基或任选取代的杂环基。

16. 权利要求 5 的方法，其中 CQ 为式 IVb；



IVb

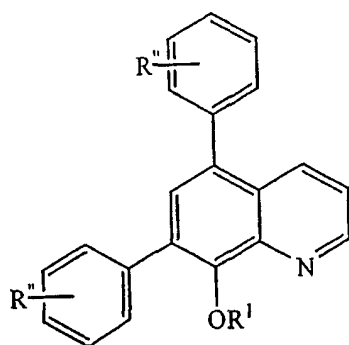
其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分；

R'' 是 C_{1-6} 烷氧基, 卤素, C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 烯基或 C_{1-6} 卤代烷基；并且

R^{5b} 是 H 或卤素。

17. 权利要求 5 的方法，其中 CQ 为式 Vb；



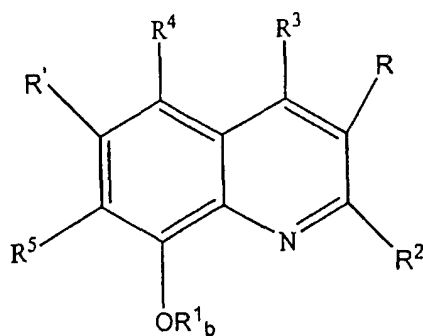
Vb

其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

R'' 是 C_{1-6} 烷氧基, 卤素, C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 烯基或 C_{1-6} 卤代烷基。

18. 权利要求 5 的方法, 其中 CQ 为式 VIb;



VIb

其中:

R^2 是 H; 任选取代的烷基; 任选取代的烯基; 任选取代的芳基; 任选取代的杂环基; 任选取代的烷氧基; 抗氧化剂; 靶向部分; COR^6 或 CSR^6 , 其中 R^6 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 羟基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂, 靶向部分, OR^7 , SR^7 或 NR^7R^8 , 其中 R^7 和 R^8 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; CN ; $CH_2NR^9R^{10}$, $HCONR^9$ 或 $HCONR^9R^{10}$, 其中 R^9 和 R^{10} 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; OR^{11} , SR^{11} 或 $NR^{11}R^{12}$, 其中 R^{11} 和 R^{12} 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基或者共同形成任选取代的杂环基; 或 $SO_2NR^{13}R^{14}$, 其中 R^{13} 和 R^{14} 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; 并且

R^3 , R^4 , R^5 , R 和 R' 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羧基, 烷基氨基, 烷硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基, 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分, 附带条件是, 当 R^1 到 R^3 , R 和 R' 是 H 时, 则 R^4 不是 C1 而且 R^5 不是 I; 并且

R^1b'' 是任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的芳基, 任选取代的芳基酰基, C_{1-6} 烷基酰基或任选取代的杂环基。

19. 权利要求 2 的方法, 其中神经系统紊乱选自散发性的或家族性的 AD, 帕金森氏病, 多发性硬化, 肌萎缩性侧索硬化, 癫痫症, 药物滥用或药物成瘾(酒精, 古柯碱, 海洛因, 安非他明等等), 脊髓障碍和/或损伤, 营养不良或神经视网膜退化(视网膜病)和外周神经病, 如糖尿病性神经病和/或毒素诱导的外周神经病, 心肌病, AIDS 痴呆和 HIV-1 诱导的神经毒性, 动脉粥样硬化, 大脑局部缺血, 大脑麻痹, 大脑肿瘤, 化疗-诱导的器官损伤, 顺氯氨铂-诱导的肾中毒性, 冠状动脉旁路术手术, 克-雅综合征和它的与“疯牛”病相关的新变体, 唐氏先天愚症, 外伤后癫痫, 弗里德里希氏共济失调, 额颞痴呆, 青光眼, 肾小球病, 血色素沉着, 血液透析, 溶血, 溶血性尿毒症综合症(韦尔病), 出血性中风, 哈-施病, 心脏病发作和再灌注损伤, 亨廷顿氏病, 雷维小体病, 间歇性跛行, 局部缺血性中风, 炎症性肠病, 黄斑变性, 疟疾, 甲醇-诱导的毒性, 脑膜炎(无菌性和结核性), 运动神经元病, 多系统萎缩症, 心肌局部缺血, 瘤形成, 围生期窒息, 心包性假性肝硬变, 进行性上核麻痹, 放疗诱导的器官损伤, 血管成形术后的再狭窄, 视网膜病, 老年性痴呆, 精神分裂症, 脓毒症, 脓毒性休克, 海绵状脑病, 蛛网膜下出血/脑血管痉挛, 硬脑膜下血肿, 外科手术外伤, 包括神经外科, 地中海贫血, 短暂性脑缺血发作(TIA),

创伤性脑损伤 (TBI)，创伤性脊椎损伤，移植，血管痴呆，病毒性脑膜炎和病毒性脑炎，与唐氏先天愚症相关的痴呆，肌萎缩性侧索硬化，运动神经元疾病，白内障，伴有雷维小体形成的痴呆，弥漫性雷维小体病，源于氧化应力的神经系统疾病，如源于糖尿病，中风和心血管疾病的神经系统疾病。

20. 权利要求 2 的方法，其中所述药剂与用于治疗神经系统紊乱的一种或多种药学上可接受的化合物一起施用。

21. 权利要求 20 的方法，其中所述化合物选自苯丝氨酸，加兰他敏，或他克林，维生素 E 或维生素 C，氟比洛芬或布洛芬，NCX-2216，17- β -雌二醇和维生素 B12。

22. 式 I，Ia，Ib，IIa，IIIa，IVa，Va，VIa，IIb，IIIb，IVb，Vb 和 VIb 的任何一种或多种药剂在制备用于治疗和/或预防与氧化应力相关的或由氧化应力加重的疾病或紊乱，与包括认知机能障碍或记忆丧失的症状相关的疾病或紊乱的药物中的用途。

23. 一种用于预防和/或治疗个体中由于氧化应力或由氧化应力加重的轻微认知机能障碍 (MCI) 或记忆丧失的方法，所述方法包括对所述个体施用有效量的降低活性氧种类水平的药剂。

24. 一种用于提高个体认知功能或记忆的方法，所述方法包括对所述个体施用有效量的药剂，所述药剂降低活性氧种类的水平，从而提高个体的认知功能或记忆。

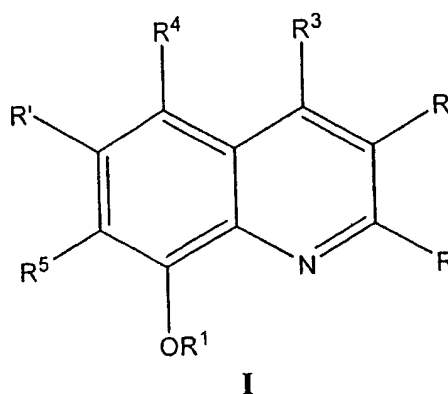
25. 权利要求 23 或 24 的方法，其中所述疾病或紊乱是神经系统疾病或紊乱。

26. 权利要求 25 的方法，其中所述药剂是金属结合剂。

27. 权利要求 26 的方法，其中该药剂能调节血浆锌和/或铜的水平。

28. 权利要求 26 的方法，其中所述金属结合剂是 8-羟基喹诺酮或氯碘羟喹 (CQ) 或其衍生物，同系物，类似物，化学等同物或模拟物。

29. 权利要求 28 的方法，其中 CQ 为式 I：



其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

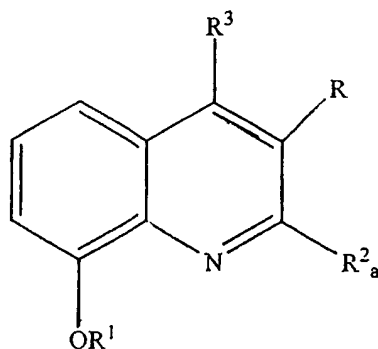
R^2 是 H; 任选取代的烷基; 任选取代的烯基; 任选取代的芳基; 任选取代的杂环基; 任选取代的烷氧基; 抗氧化剂; 靶向部分; COR^6 或 CSR^6 , 其中 R^6 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 羟基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂, 靶向部分, OR^7 , SR^7 或 NR^7R^8 , 其中 R^7 和 R^8 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基; CN ; $CH_2NR^9R^{10}$, $HCONR^9$ 或 $HCNNR^9R^{10}$, 其中 R^9 和 R^{10} 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环

基; OR^{11} , SR^{11} 或 $NR^{11}R^{12}$, 其中 R^{11} 和 R^{12} 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基或共同形成任选取代的杂环基; 或 $SO_2NR^{13}R^{14}$, 其中 R^{13} 和 R^{14} 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; 并且

R^3 , R^4 , R^5 , R 和 R' 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羧基, 烷基氨基, 烷基硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基, 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分,

附带条件是, 当 R^1 到 R^3 , R 和 R' 是 H 时, 则 R^4 不是 Cl 而且 R^5 不是 I。

30. 权利要求 28 的方法, 其中 CQ 为式 Ia:



其中:

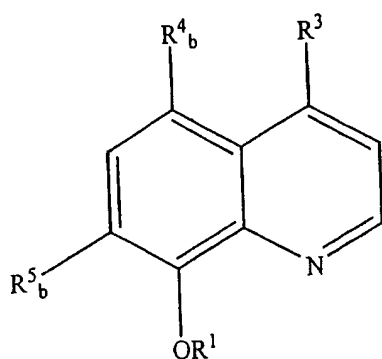
R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

R^3 和 R 是相同的或者不同的, 而且选自 H; 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羧基, 烷基氨基, 烷基硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基; 卤素, SO_3H , 胺, 任选取

代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分; 并且

R^2a 是 H; 任选取代的 C_{1-6} 烷基; 任选取代的 C_{1-6} 烯基, 任选取代的芳基; 任选取代的杂环基; 抗氧化剂; 靶向部分; COR^6a 或 CSR^6a , 其中 R^6a 是 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 羟基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基或 OR^7a , SR^7a 或 NR^7aR^8a , 其中 R^7a 和 R^8a 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基; CN ; $CH_2NR^9aR^{10}a$, $HCONR^9a$ 或 $HCCNR^9aR^{10}a$, 其中 R^9a 和 $R^{10}a$ 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基; $OR^{11}a$, $SR^{11}a$ 或 $NR^{11}aR^{12}a$, 其中 $R^{11}a$ 和 $R^{12}a$ 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基或共同形成任选取代的杂环基; 或 $SO_2NR^{13}aR^{14}a$, 其中 $R^{13}a$ 和 $R^{14}a$ 是相同的或不同的, 而且选自 H 或任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

31. 权利要求 28 的方法, 其中 CQ 为式 Ib:



Ib

其中:

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任

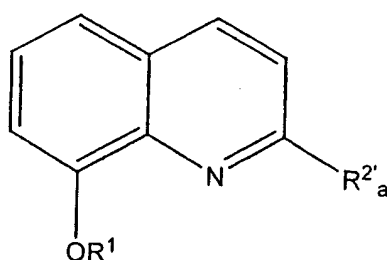
选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

R^3 是相同的或者不同的, 而且选自 H; 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羟基, 烷基氨基, 烷硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基; 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分; 并且

R^4b 和 R^5b 是相同的或不同的, 而且选自 H; 任选取代的 C_{1-6} 烷基; 任选取代的 C_{2-6} 烯基; 卤素; 抗氧化剂; 靶向部分, SO_3H ; $SO_2NR^{13}aR^{14}a$, 其中 $R^{13}a$ 和 $R^{14}a$ 如上述式 1a 中所限定的; 或 $OR^{15}b$, $SR^{15}b$ 或 $NR^{15}bR^{16}b$, 其中 $R^{15}b$ 和 $R^{16}b$ 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的 C_{1-6} 酰基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基,

附带条件是, 当 R^1 和 R^3 是 H 时, 则 R^4 不是 Cl 而且 R^5 不是 I。

32. 权利要求 30 的方法, 其中 1a 为式 IIa:



IIa

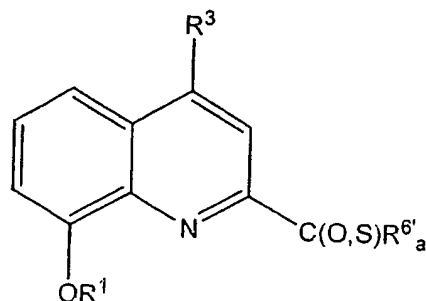
其中:

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

$R^{2'}a$ 是任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的

芳基或任选取代的杂环基。

33. 权利要求 30 的方法，其中 1a 为式 IIIa：



IIIa

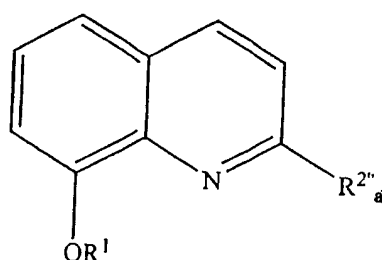
其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

R^3 是相同的或者不同的, 而且选自 H; 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羟基, 烷基氨基, 烷硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基, 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分; 并且

$R^{6'a}$ 是任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 羟基, 或 $OR^{7'a}$, $SR^{7'a}$, $N_2R^{7'a}R^{8'a}$ 或 $NR^{7'a}R^{8'a}$, 其中 $R^{7'a}$ 和 $R^{8'a}$ 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

34. 权利要求 28 的方法，其中 CQ 为式 IVa：



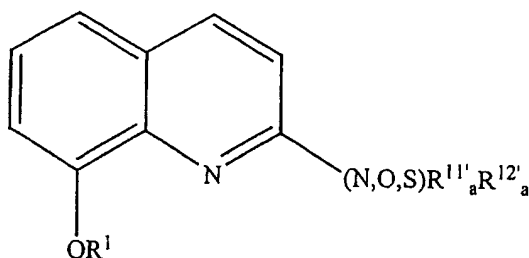
IVa

其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

R^{2a} 是 CN; $CH_2NR^{9'a}R^{10'a}$, $HCONR^{9'a}$ 或 $HCNNR^{9'a}R^{10'a}$, 其中 $R^{9'a}$ 和 $R^{10'a}$ 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

35. 权利要求 28 的方法, 其中 CQ 为式 Va:



Va

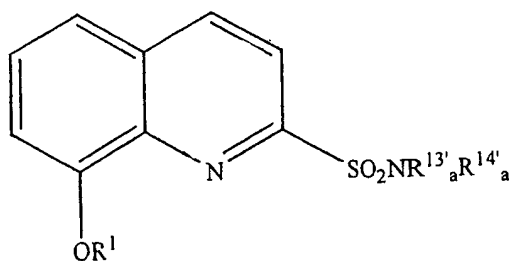
其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任

选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 和

$R^{11}a'$ 和 $R^{12}a'$ 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基和任选取代的杂环基或者共同形成任选取代的杂环基。

36. 权利要求 28 的方法, 其中 CQ 为式 VIa:



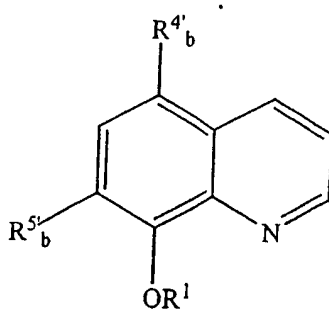
VIa

其中:

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

$R^{13}a'$ 和 $R^{14}a'$ 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

37. 权利要求 31 的方法, 其中 Ib 为式 IIb;



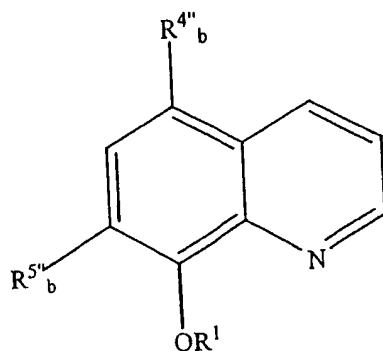
IIb

其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

$R^{4'b'}$ 和 $R^{5'a'}$ 是相同的或不同的, 而且选自卤素, C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 烯基, 胺, SO_3H , 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

38. 权利要求 31 的方法, 其中 Ib 为式 IIIb;



IIIb

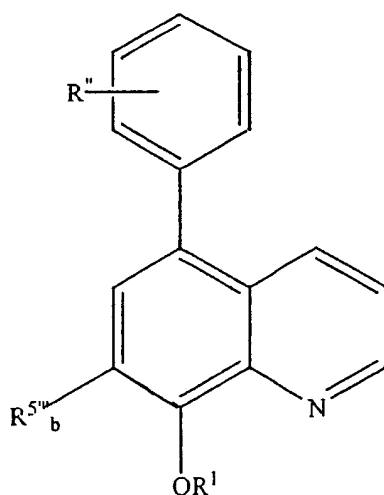
其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

$R^{4'b''}$ 是 H 或卤素; 并且

$R^{5'b''}$ 是任选取代的芳基或任选取代的杂环基。

39. 权利要求 28 的方法, 其中 CQ 为式 IVb:



IVb

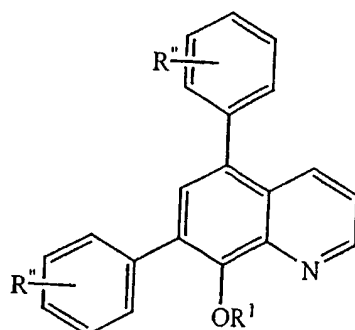
其中：

R¹是H,任选取代的烷基,任选取代的烯基,任选取代的酰基,任选取代的芳基,任选取代的杂环基,抗氧化剂或靶向部分;

R''是C₁₋₆烷氧基,卤素,C₁₋₆烷基,C₂₋₆烯基或C₁₋₆卤代烷基;并且

R⁵ᵇ是H或卤素。

40. 权利要求 28 的方法, 其中 CQ 为式 Vb;



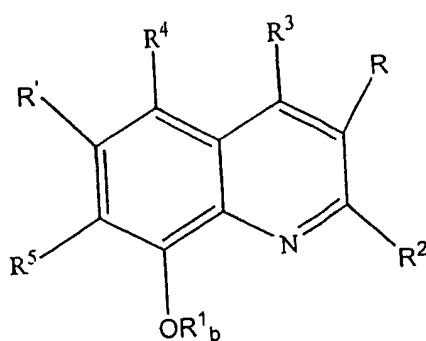
Vb

其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分; 并且

R'' 是 C_{1-6} 烷氧基, 卤素, C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 烯基或 C_{1-6} 卤代烷基。

41. 权利要求 28 的方法, 其中 CQ 为式 VIb;



VIb

其中:

R^2 是 H; 任选取代的烷基; 任选取代的烯基; 任选取代的芳基; 任选取代的杂环基; 任选取代的烷氧基; 抗氧化剂; 靶向部分; COR^6 或 CSR^6 , 其中 R^6 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 羟基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂, 靶向部分, OR^7 , SR^7 或 NR^7R^8 , 其中 R^7 和 R^8 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; CN ; $CH_2NR^9R^{10}$, $HCNOR^9$ 或 $HCNNR^9R^{10}$, 其中 R^9 和 R^{10} 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; OR^{11} , SR^{11} 或 $NR^{11}R^{12}$, 其中 R^{11} 和 R^{12} 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基或者共同形成任选取代的杂环基; 或 $SO_2NR^{13}R^{14}$,

其中 R^{13} 和 R^{14} 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; 并且

R^3 , R^4 , R^5 , R 和 R' 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羧基, 烷基氨基, 烷硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基, 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分, 附带条件是, 当 R^1 到 R^3 , R 和 R' 是 H 时, 则 R^4 不是 Cl 而且 R^5 不是 I; 并且

R^{1b} 是任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的芳基, 任选取代的芳基酰基, C_{1-6} 烷基酰基或任选取代的杂环基。

42. 权利要求 25 的方法, 其中神经系统紊乱选自散发性的或家族性的 AD, 帕金森氏病, 多发性硬化, 肌萎缩性侧索硬化, 癫痫症, 药物滥用或药物成瘾(酒精, 古柯碱, 海洛因, 安非他明等等), 脊髓障碍和/或损伤, 营养不良或神经视网膜退化(视网膜病)和外周神经病, 如糖尿病性神经病和/或毒素诱导的外周神经病, 心肌病, AIDS 痴呆和 HIV-1 诱导的神经毒性, 动脉粥样硬化, 大脑局部缺血, 大脑麻痹, 大脑肿瘤, 化疗-诱导的器官损伤, 顺氯氨铂-诱导的肾中毒性, 冠状动脉旁路术手术, 克-雅综合征和它的与“疯牛”病相关的新变体, 唐氏先天愚症, 外伤后癫痫, 弗里德里希氏共济失调, 额颞痴呆, 青光眼, 肾小球病, 血色素沉着, 血液透析, 溶血, 溶血性尿毒症综合症(韦尔病), 出血性中风, 哈-施病, 心脏病发作和再灌注损伤, 亨廷顿氏病, 雷维小体病, 间歇性跛行, 局部缺血性中风, 炎症性肠病, 黄斑变性, 疟疾, 甲醇-诱导的毒性, 脑膜炎(无菌性和结核性), 运动神经元病, 多系统萎缩症, 心肌局部缺血, 瘤形成, 围生期窒息, 心包性假性肝硬变, 进行性上核麻痹, 放疗诱导的器官损伤, 血管成形术后的再狭窄, 视网膜病, 老年性痴呆, 精神分裂症, 脓毒症, 脓

毒性休克，海绵状脑病，蛛网膜下出血/脑血管痉挛，硬脑膜下血肿，外科手术外伤，包括神经外科，地中海贫血，短暂性脑缺血发作(TIA)，创伤性脑损伤(TBI)，创伤性脊椎损伤，移植，血管痴呆，病毒性脑膜炎和病毒性脑炎，与唐氏先天愚症相关的痴呆，肌萎缩性侧索硬化，运动神经元疾病，白内障，伴有雷维小体形成的痴呆，弥漫性雷维小体病，源于氧化应力的神经系统疾病，如源于糖尿病，中风和心血管疾病的神经系统疾病。

43. 权利要求 25 或 26 或 27 中任一项的方法，其中所述药剂与用于治疗神经系统紊乱的一种或多种药学上可接受的化合物一起施用。

44. 权利要求 43 的方法，其中所述化合物选自苯丝氨酸，加兰他敏，或他克林，维生素 E 或维生素 C，氟比洛芬或布洛芬，NCX-2216，17- β -雌二醇和维生素 B 12。

45. 式 I, Ia, Ib, IIa, IIIa, IVa, Va, VIa, IIb, IIIb, IVb, Vb 和 VIb 的任何一种或多种药剂在制备用于治疗和/或预防与氧化应力相关的或由氧化应力加重的疾病或紊乱，与包括认知功能障碍或记忆丧失的症状相关的疾病或紊乱的药物中的用途。

神经系统疾病的治疗

技术领域

本发明总体上涉及治疗与氧化应力相关或由氧化应力加重的疾病和/或紊乱,而且其症状包括认知的损伤例如初步或轻微的认知功能障碍或记忆丧失。用于实施本发明的药剂和方法能调节而且尤其能降低活性氧种类的水平,从而最小化氧化应力。本发明更进一步提供了用于治疗 and/或预防神经系统疾病,尤其是那些与氧化应力相关的或由氧化应力促进的疾病的方法和药剂。这里所指的神经系统紊乱包括任何导致认知功能障碍例如初步或轻微的认知功能障碍或记忆丧失的疾病。本发明因此提供了用于治疗,改善认知功能障碍的症状和/或抑制认知功能障碍如初步或轻微的认知功能障碍或记忆丧失的方法和药剂。

背景技术

本说明书中涉及的出版物的参考文献目录详细资料也收集于该描述的结尾。

本说明书对任何现有技术的参考,不能而且不应该认为是理解或任何形式的建议,在任何国家该现有技术构成了普通常识的部分。

科学家已经发现了证据,其表明帕金森氏病以及其它神经系统疾病,例如阿尔茨海默氏病的发病和进展,可能是由于氧化应力。这种相关是基于发现 α -突触核蛋白(α -syn),一种在神经元的突触前端发现的蛋白质,是几个神经系统紊乱标记,包括雷维小体(LB)和雷维轴突(LN),帕金森氏病的两个特征性病变,的主要成分而得出的。表明存在于病变中的 α -syn 被硝化,一种由自由基损害引起的氧化应

力的标志。

神经系统疾病例如帕金森氏病和阿尔茨海默氏病的发病率，由于我们的老年人口而持续增加。

每个物种的寿命被认为是生物学固定的，人寿命的长短是不确定的，但是可能高达 120 岁。因为本世纪预期寿命已经显著上升，老年人成为我们人口的增加部分，而且他们的卫生保健需要将持续增长达数十年。

尽管自然老化的特征在于人脑的质量和体积的适度减少，其可能是由于脑细胞的萎缩和/或死亡，这些改变在死于神经系统疾病的患者的脑中是非常深刻的。大多数这些疾病是散发的（也即，不是由于遗传突变），而且是未知病因的，但是许多基因中的数百个不同的突变显示导致几种神经系统疾病的家族（遗传的）变体。调查中发现了带有这些突变的许多基因，以正好在最近的十年中确定神经系统疾病的遗传基础。在长期的正常脑功能之后，神经系统疾病逐渐发展，这是由于特定脑区域的进行性退化（也即，神经细胞机能障碍和死亡）。因为当神经细胞损失超过用于延续由受影响的脑区域执行的功能（例如，记忆，运动）的“阈值”时，疾病的症状表现才发生，脑退化的实际开始可能先于临床表现很多年。

理智的和较高的综合认知能力逐渐地变得削弱，而且妨碍了导致痴呆的神经系统疾病中的日常生活活动。老年人群中痴呆的精确发病率是未知的，但是在 15% 的大于 65 岁的人中，5% 患有严重地中度精神错乱，10% 患有适度地中度精神错乱。严重痴呆的发病率从 65 岁的 1% 增加到 85 岁的 45%。痴呆有许多原因，但是阿尔茨海默氏病 (AD) 占大于 65 岁的精神错乱患者的 50%。

淀粉样蛋白斑已知存在于患有某些神经系统疾病的个体的脑中，但是不知道它是原发疾病过程的症状，还是它实际上是在该疾病的病原学中所涉及到的。例如，一些作者认为 A β 沉淀可能是正常脑防御机制的指示，其中脑企图汇集 A β ；这种沉淀可能存在于正常个体的脑中。存在 tau 蛋白的突变，其中神经纤丝缠结，但是没有淀粉样蛋白斑存在于脑中；这种疾病称为 tauopathy。

它还表明淀粉状纤丝的沉淀在其它的神经系统疾病中可能也是重要的，其中 α - 突触核蛋白纤丝沉淀。这些疾病包括帕金森氏病，具有雷维小体形成的痴呆，多系统萎缩症，Hallerboden-Spatz 疾病和弥散雷维小体疾病。

AD 病原学的一种竞争理论是起因步骤存在于脑内生物发生和 A β 淀粉样蛋白累积途径中（参见 Selkoe 最近的综述，Physiol Rev 81 (2) : 741-766, 2001; Beyreuther et al., Springer, Berlin, 2001; Bush, Science 292 : 2251-2252, 2001)。然而，迄今为止，没有证明靶向该途径的药物或药剂对治疗神经系统疾病和/或改善尤其由氧化应力引起的认知机能障碍或者记忆丧失的作用具有持久作用。

因此，直到本发明出现，一直没有开发出其目标在于尤其由氧化应力诱导的认知机能障碍或记忆丧失的症状的治疗方案。

由于由氧化应力引起的心理上和临床上衰弱的疾病增加的发病率，明显地需要寻找更有效的方法来治疗和，优选地，预防这种疾病的症状包括认知机能障碍和记忆丧失的开始。

发明内容

在本说明书中，除非上下文中另有要求，单词“comprise”，或变体如“comprises”或“comprising”，应当理解为包括所述的元件或整体或元件或整体的组，但是不排除任何其它的元件或整体或元件或整体

的组。

根据本发明，确定了导致症状例如认知机能障碍或记忆丧失的一系列疾病或紊乱与氧化应力相关。尤其重要的疾病，在这方面，包括或由与氧化应力相关的神经系统疾病和紊乱或与活性氧种类相关的其它神经系统疾病所致。因此，本发明提供了用于减少活性氧种类形成的方法和药剂，并由此提供了治疗或预防任何与氧化应力相关的疾病，尤其是那些具有认知机能障碍或记忆丧失的症状的疾病。甚至更特别地，这里指的疾病和紊乱是神经系统疾病，其促进认知机能障碍例如初步或轻微的认知机能障碍或记忆丧失。因此，本发明更进一步提供了用于改善认知机能障碍例如初步或轻微认知机能障碍或记忆丧失的症状，和/或抑制认知机能障碍例如初步或轻微认知机能障碍或记忆丧失的方法和药剂。

本发明因此提供了能调节活性氧种类的水平，从而最小化氧化应力的药剂，用于治疗 and 预防由氧化应力引起的认知机能障碍例如初步或轻微认知机能障碍或记忆丧失。本发明所指的尤其重要的紊乱，是由氧化应力引起的神经系统疾病例如阿尔茨海默氏病，与唐氏先天愚症相关的痴呆，Creutzfeldt-Jakob 疾病，与帕金森氏病相关的痴呆和来自氧化应力的由于糖尿病，中风及其它心血管冲击所致的神经系统疾病。该药剂方便地以组合物的形式存在，其包括所述药剂和一种或多种药学上可接受的载体，稀释剂和/或赋形剂。把本发明的药剂或组合物施用给遭受或具有遭受神经系统紊乱或由氧化应力所致的或加重的其它紊乱的初步诱因的个体。

这里涉及的神经系统紊乱的治疗和预防包括达到改善个体的认知或记忆功能的效果。

在一个优选的实施方案中，所述药剂是金属结合剂，相对于导致

改善认知功能的治疗之前的水平，所述药剂的施用导致活性氧种类的水平降低。“施用”包括传递药剂。

在一个相关的实施方案中，所述药剂是金属结合剂，相对于治疗之前的水平，施用该药剂导致个体血浆 Zn^{2+} 水平升高。同时可出现改善的认知功能。

优选地，相对于治疗之前的水平，或相对于年龄相当的未经治疗的个体中的水平，金属结合剂保持或降低了接受治疗的个体中活性氧种类的水平。

本发明所指的特异性金属结合剂包括 8-羟基喹啉或其衍生物，其能结合锌，铜或铁例如 Zn^{2+} ， Cu^{2+} 或 Fe^{3+} 离子，而且其显示一种或多种下列特性：

- (a) 能体外抑制 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 或 Fe^{3+} 诱导的淀粉样蛋白聚集；
- (b) 能跨过血脑屏障；和/或
- (c) 具有最小的或缺乏体外神经毒性。

一种优选的生物可利用的铜/锌金属结合剂是氯碘喹，又名氯碘羟喹 (CQ)。优选的金属结合剂还显示抗氧化剂活性。

本发明的药剂，其能调节血浆锌和/或血浆铜的水平，同时附随地降低活性氧种类的水平，和包括该药剂的组合物，可用于制备用于治疗神经系统紊乱和/或抑制认知机能障碍例如初步或轻微认知机能障碍或记忆丧失的药物。这种神经系统紊乱包括，例如，神经学淀粉样变性。该药剂可以全身地或局部地例如体表应用。

因此，本发明包括一种用于预防和/或治疗由氧化应力引起或加重的紊乱或疾病的方法，该紊乱或疾病包括认知机能障碍或记忆丧失

的症状,所述方法包括对所述个体施用有效量的药剂或其衍生物,同系物,类似物,化学等同物或模拟物,该药剂降低活性氧种类的水平,结果改善了认知机能障碍例如初步或轻微认知机能障碍或记忆丧失的症状,和/或抑制认知机能障碍例如初步或轻微认知机能障碍或记忆丧失。

本发明更进一步包括一种用于预防和/或治疗轻微的认知机能障碍(MCI)或记忆丧失的方法,所述方法包括对所述个体施用有效量的药剂或其衍生物,同系物,类似物,化学等同物或模拟物,该药剂调节活性氧种类的水平,和/或调节血浆锌和/或铜的水平。

在任何一种上述的方法中,优选的药剂是8-羟基喹啉化合物例如这里的式I中所公开的那些化合物。

附图说明

图1A和1B是图解表示法,显示了认知能力从基线开始随着时间改变的平均值(+SD)(如利用ADAS-cog确定的),(A)氯碘羟喹组对空白对照剂组的两个组,(B)治疗组内严重程度的划分[不太严重地影响(ADAS-Cog < 25),较严重地影响(ADAS-cog >25)('p<0.05; **p<0.01)]。

图2A和2B是图解表示法,显示了从基线开始血浆A β 42水平随着时间改变的平均值(+SD),(A)是氯碘羟喹组对空白对照剂组,(B)是如图1所述的严重程度的划分。

图3A和3B是图解表示法,显示了从基线开始,在氯碘羟喹组对空白对照剂组的两个组中随时间改变的平均值(+SD),(A)为血浆锌,(B)为血浆铜。

优选实施方案的详述

本发明提供了用于治疗 and/或预防与氧化应力相关的紊乱和/或疾病的药剂和方法,而且该紊乱和/或疾病具有认知机能障碍或记忆丧失的症状。这种紊乱或疾病是神经系统紊乱或疾病,其包括导致或促进认知机能障碍例如初步或轻微认知机能障碍或记忆丧失的任何神经学状态。可选择地,或此外,神经系统疾病起因于或由活性氧种类水平的增加促进。因此,本发明提供了用于治疗与活性氧种类或其它形式的氧化应力例如导致神经系统疾病的氧化应力相关的疾病的药剂和方法。本发明优选的药剂是金属结合剂,其与金属离子螯合或结合。一个例子是氯碘喹[PBT-1; 又名氯碘羟喹(CQ)],其是生物可利用的Cu/Zn结合剂。

在一个优选的实施方案中,在患有起因于氧化应力的轻微到中度认知机能障碍或轻微到中度神经系统疾病的个体中,活性氧种类的水平一般降低。

在详细描述本发明之前,应当理解除非另有陈述,本发明不局限于特定的组分制剂,生产方法,给药方案,等等,因为这是可以改变的。还应当理解,这里使用的术语只是为了描述特定的实施方案的目的,而不是为了限制本发明。

必须指出,除非上下文中另外清楚地指明,如在本说明书中使用的,单数形式的“a”,“an”和“the”包括复数形式。因此,例如,“活性剂”包括单个活性剂,以及两种或多种活性剂;等等。

在本发明的描述和权利要求中,下列术语使用时与下面陈述的定义一致。

这里使用的措辞“改善认知功能”,指相对于年龄相当的对照,减

缓或抑制认知功能的衰退，增强认知功能，防止或延迟认知机能障碍的开始。认知功能合适地可通过本领域熟知的试验进行确定，例如 ADAS-cog 试验，或其它的常规认知筛选试验，如微型精神状态测验 (Mini Mental Status Exam)，和记忆损伤筛选 (Memory Impairment Screen)。一种更有效的辨别认知试验，如 CogState 试验 (CogState Ltd, www.cogstate.com)，也可使用。

措辞“氧化应力”指一种过程，借此自由基或活性氧种类的数量增加，随后出现细胞损坏并导致疾病。自由基是攻击性原子或分子，当它们与细胞组分反应时会引起损害。由于具有未受损伤的电子，它们是高度反应性的。自由基攻击最靠近的稳定分子而且整合它的电子，从而氧化该分子。由自由基引起的氧化应力的指示包括受损的 DNA 碱基，蛋白质氧化产物和脂质过氧化作用产物。

术语“金属结合剂”在这里以其广义使用，指具有两种或多种能结合金属原子，优选铜，锌或铁的供体原子的化合物。在一种特定的实施方案中，如在 AD 的治疗中，金属结合剂将具有高于相应的 A β -金属离子复合物的热力学稳定性。优选的铜，锌和铁的形式是铜，锌和铁离子如 Cu²⁺，Zn²⁺和 Fe³⁺。金属这里可能以它们的全称或 2 字母缩写表示。

这里使用的术语“特异性金属结合剂”，指 8-羟基喹啉或其衍生物，其具有结合，例如，Zn²⁺，Cu²⁺或 Fe³⁺离子的能力。

术语“化合物”，“药剂”，“药理学活性剂”，“药物”，“活性物”和“药”，这里可互换地使用，指能诱导所需的药理学和/或生理学效应的化合物。该术语也包含这里具体提到的那些活性剂的药学上可接受的和药理学活性成分，包括但不限于盐，酯，酰胺，前体药物，活性代谢产物，类似物等等。当使用术语“化合物”，“活性剂”，“药理学活性

剂”，“药物”，“活性物”和“药”时，则应当理解，这包括活性剂本身以及药学上可接受的，药理学活性的盐，酯，酰胺，前体药物，代谢产物，类似物，等等。

“化合物”，“药剂”，“药理学活性剂”，“药物”，“活性物”和“药”，包括两种或多种活性物如一种或多种金属离子金属结合剂的组合。“组合”也包括由两部分组成的或多种如多部分的药物组合物，其中单独地提供药剂，而且单独地产生或分配药剂或分配之前将它们混合到一起。

如这里使用的，术语“治疗有效量”，指能有效产生所需的治疗应答的本发明化合物的量，该治疗应答为例如预防或治疗对通过施用药理学活性剂进行治疗敏感的疾病。“预防有效量”具有相似的定义。

具体的“治疗有效量”当然随这类因素而改变，如待治疗的特定疾病，个体的身体条件和病历，待治疗的动物种类，治疗的持续时间，并行治疗（如果有的话）的性质，和使用的特定制剂以及化合物或它的衍生物的结构。

“药学上可接受的”载体，赋形剂或稀释剂，指药物辅料，其由非生物学的或非不合需要的材料组成，即该材料可以与选择的活性剂一起给予个体而不引起任何或实质性的不利反应。载体可包括赋形剂及其它添加剂如稀释剂，去污剂，染色剂，润湿或乳化剂，pH 缓冲剂，防腐剂，等等。

同样，这里提供的化合物的“药理学上可接受的”盐，酯，酰胺，前体药物或衍生物，是非生物学的或者非不合需要的盐，酯，酰胺，前体药物或衍生物。载体可以是液体或固体，根据设想的施用方式进行选择。

这里使用的术语“治疗”（“treating”和“treatment”），指降低症状的严重程度和/或频率，消除症状和/或基本原因，防止症状和/或它们的基本原因的出现，和改善或修复损伤。因此，例如，“治疗”患者包括通过抑制或逆转氧化应力介导的疾病或症状例如认知功能障碍如预先或轻微的认知功能障碍或记忆丧失，来防止敏感个体中特定的紊乱或不利的生理学事件，以及治疗临床上有症状的个体。

本发明的化合物可以包含常规无毒的药学上可接受的载体，辅药和赋形剂的剂量单位制剂，口服，体表，或肠胃外施用。这里使用的术语肠胃外包括皮下，静脉内，肌肉内，鞘内，颅内注射或灌输技术。

通常，这里使用的术语“治疗”（“treating”，“treatment”等），指对个体，组织或细胞进行作用以获得所需的药理学和/或生理学效应的手段。该作用，在完全地或部分地预防疾病或其病征或症状方面可能是预防性的，和/或在部分或完全治愈疾病方面可能是治疗性的。个体通常是人。然而，本发明延伸到例如用于动物模型测试的非人的灵长类动物或非灵长类动物。

这里使用的“治疗”覆盖了任何疾病的治疗或预防，而且包括预防疾病在易感染该疾病，但是还没有诊断为患有该疾病的个体中发生；抑制疾病；也即，抑制它的发展；或减轻或改善疾病的影响；也即导致该疾病的作用的退化。

因此，本发明提供了药物及其它药剂，其能调节血浆锌和/或铜或它们的离子形成的水平，同时附随地降低自由基或活性氧种类和/或保持或降低A β 的水平。优选地，该药剂是金属结合剂，其能螯合或结合铜和锌离子。

在一个优选的实施方案中，施用金属结合剂导致减少活性氧种

类，和/或相对于它们治疗之前的水平，提升了个体的血浆锌水平。另外或可选择地，保持或降低 Aβ 的水平，和/或改善或改良认知机能障碍例如预先或轻微的认知机能障碍或记忆丧失的症状。优选地，个体的血浆铜水平相对于治疗之前的水平基本上没有改变。

需要治疗神经系统机能障碍的个体经常显示认知机能障碍例如预先或轻微认知机能障碍或记忆丧失，从中度到严重的水平。这里建议，本发明的药剂能改善认知机能障碍例如预先或轻微认知机能障碍或记忆丧失的症状。

在一个尤其优选的实施方案中，显示中度到严重的认知机能障碍例如预先或轻微认知机能障碍或记忆丧失的个体中，自由基或活性氧种类的水平至少保持相对于治疗之前的水平。

在本发明的上下文中，尤其优选的金属结合剂包括 8-羟基喹啉或其衍生物，同系物，类似物或化学等同物或模拟物，其能结合 Zn^{2+} ， Cu^{2+} 或 Fe^{3+} 离子，而且其更进一步地显示一种或多种以下特性：-

- (a) 能降低活性氧种类的水平；
- (b) 体外能抑制 Zn^{2+} ， Cu^{2+} 或 Fe^{3+} 诱导的淀粉样蛋白聚集；
- (c) 能跨过血脑屏障；和/或
- (d) 具有最小的或缺乏体外神经毒性。

这种 8-羟基喹啉进一步限定如下。

优选地，该药剂还显示抗氧化剂活性。在本发明的上下文中，一种尤其优选的药剂是 CQ。

因此，本发明的另一个方面包括一种用于预防和/或治疗个体中特征在于损伤的认知功能包括 MCI 的神经系统疾病的方法，所述的方

法包括对所述个体施用有效量的药剂或其衍生物，同系物，类似物，化学等同物或模拟物，该药剂降低活性氧种类的水平和/或调节血浆锌和/或铜的水平。

在另一个实施方案中，本发明更进一步包括一种用于预防和/或治疗轻微认知功能障碍(MCI)或记忆丧失的方法，所述的方法包括对所述个体施用有效量的药剂或其衍生物，同系物，类似物，化学等同物或模拟物，该药剂降低活性氧种类的水平 and/或调节血浆锌和/或铜的水平。

优选的药剂是如下所述的 8-羟基喹啉化合物。

在另一个实施方案中，本发明的化合物可导致保持或降低 A β 的水平。这里的 A β 水平通常指血浆或血清 A β 水平。

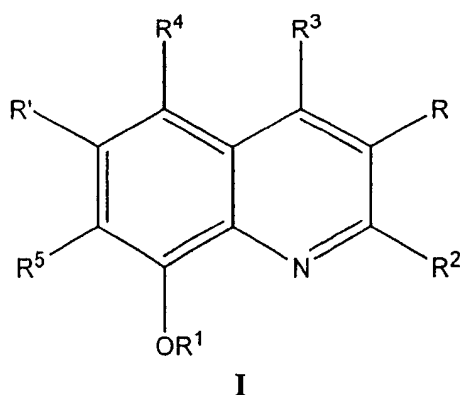
优选地，预防和/或治疗导致减缓或抑制患有神经系统紊乱如例如淀粉样变性的个体中认知功能的下降。

药剂能在中枢神经系统内富集可能是有利的。可以通过能使该药剂主动地或被动地转运到脑中的基团包含到药剂中，例如通过形成亲脂性的二酯（参见澳大利亚专利 No. 739835）而使该药剂具有这种能力。

该药剂的单个分子能提供 3 个或更多的螯合点而使药剂：金属离子之比为 1：1 可能也是有利的。

因此，本发明提供了一种用于治疗和/或预防与氧化应力相关的或由氧化应力加重的神经系统疾病或紊乱的方法，该疾病或紊乱显示的症状包括认知功能障碍或记忆丧失，所述方法包括对需要其的个体

施用有效量的式 I 的药剂：



其中：

R^1 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

R^2 是 H; 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基; 任选取代的烷氧基; 抗氧化剂; 靶向部分; COR^6 或 CSR^6 , 其中 R^6 是 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 羟基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂, 靶向部分, OR^7 , SR^7 或 NR^7R^8 , 其中 R^7 和 R^8 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; CN ; $CH_2NR^9R^{10}$, $HCNOR^9$ 或 $HCNNR^9R^{10}$, 其中 R^9 和 R^{10} 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; OR^{11} , SR^{11} 或 $NR^{11}R^{12}$, 其中 R^{11} 和 R^{12} 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或取代的杂环基或者一起形成任选取代的杂环基; 或 $SO_2NR^{13}R^{14}$, 其中 R^{13} 和 R^{14} 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; 并且

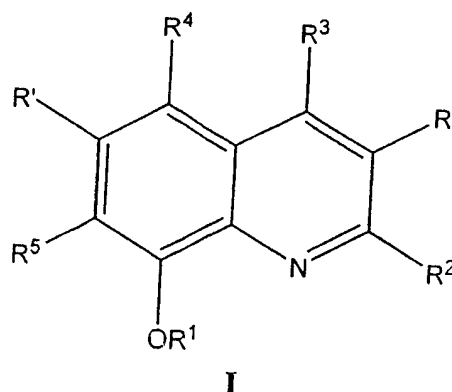
R^3 , R^4 , R^5 , R 和 R' 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羟

基, 烷基氨基, 烷硫基, 烷基亚磺酰基, 烷基磺酰基, 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分,

附带条件是, 当 R^1 到 R^3 , R 和 R' 是 H 时, 则 R^4 不是 Cl 而且 R^5 不是 I ,

其盐, 水合物, 溶剂化物, 衍生物, 前体药物, 互变异构体和/或异构体。

在一个相关的实施方案中, 本发明更进一步地包括一种用于预防和/或治疗轻微认知功能障碍 (MCI) 或记忆丧失的方法, 所述方法包括对所述个体施用有效量的式 I 的药剂:



其中:

R^1 是 H , 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的酰基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或靶向部分;

R^2 是 H ; 任选取代的烷基; 任选取代的烯基; 任选取代的芳基; 任选取代的杂环基; 任选取代的烷氧基; 抗氧化剂; 靶向部分; COR^6 或 CSR^6 , 其中 R^6 是 H , 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 羟基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂, 靶向部分, OR^7 , SR^7 或 NR^7R^8 , 其中 R^7 和 R^8 是相同的或者不同的, 而且选自 H , 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; CN ; $\text{CH}_2\text{NR}^9\text{R}^{10}$, HCNOR^9 或 $\text{CNNR}^9\text{R}^{10}$, 其中 R^9 和 R^{10} 是相同的或者不同的, 而且

选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; OR^{11} , SR^{11} 或 $NR^{11}R^{12}$, 其中 R^{11} 和 R^{12} 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基或者共同形成任选取代的杂环基; 或 $SO_2NR^{13}R^{14}$, 其中 R^{13} 和 R^{14} 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基; 并且

R^3 , R^4 , R^5 , R 和 R' 是相同的或不同的, 而且选自 H, 任选取代的烷基, 任选取代的烯基, 任选取代的烷氧基, 任选取代的酰基, 羟基, 烷基氨基, 烷基硫基, 烷基磺酰基, 烷基亚磺酰基, 卤素, SO_3H , 胺, 任选取代的芳基, 任选取代的杂环基, 抗氧化剂或者靶向部分,

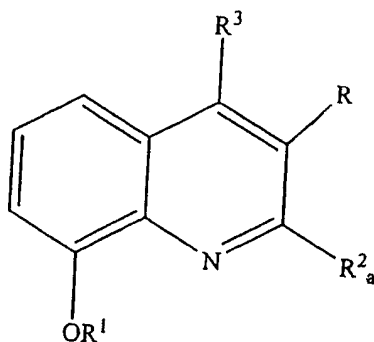
附带条件为, 当 R^1 到 R^3 , R 和 R' 是 H 时, 则 R^4 不是 Cl 而且 R^5 不是 I,

其盐, 水合物, 溶剂化物, 衍生物, 前体药物, 互变异构体和/或异构体。

本发明更进一步地包括式 I 的药剂在制备治疗和/或预防与氧化应力相关的或由氧化应力加重的疾病或紊乱和与包括认知机能障碍或记忆丧失的症状相关的疾病或紊乱的药物中的应用。

优选的式 I 的药剂如下:

(i) 式 Ia

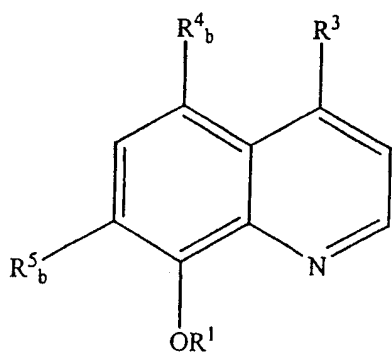


其中：

R , R^1 和 R^3 如上述式 I 中所限定的；并且

R^2a 是 H；任选取代的 C_{1-6} 烷基；任选取代的 C_{1-6} 烯基；任选取代的芳基；任选取代的杂环基；抗氧化剂；靶向部分； COR^6a 或 CSR^6a ，其中 R^6a 是 H，任选取代的 C_{1-6} 烷基，任选取代的 C_{2-6} 烯基，羟基，任选取代的芳基，任选取代的杂环基或 OR^7a , SR^7a 或 NR^7aR^8a ，其中 R^7a 和 R^8a 是相同的或者不同的，而且选自 H，任选取代的 C_{1-6} 烷基，任选取代的 C_{2-6} 烯基，任选取代的芳基或者任选取代的杂环基；CN； $CH_2NR^9aR^{10}a$, $HCONR^9a$ 或 $HCNNR^9aR^{10}$ ，其中 R^9a 和 $R^{10}a$ 是相同的或者不同的，而且选自 H，任选取代的 C_{1-6} 烷基，任选取代的 C_{2-6} 烯基，任选取代的芳基或者任选取代的杂环基； $OR^{11}a$, $SR^{11}a$ 或 $NR^{11}aR^{12}a$ ，其中 $R^{11}a$ 和 $R^{12}a$ 是相同的或者不同的，而且选自 H，任选取代的 C_{1-6} 烷基，任选取代的 C_{2-6} 烯基，任选取代的芳基或者任选取代的杂环基或者共同形成任选取代的杂环基；或 $SO_2NR^{13}aR^{14}a$ ，其中 $R^{13}a$ 和 $R^{14}a$ 是相同的或者不同的，而且选自 H，任选取代的 C_{1-6} 烷基，任选取代的 C_{2-6} 烯基，任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

(ii) 式 Ib



Ib

其中：

R^1 和 R^3 如上述式 I 中所限定的；并且

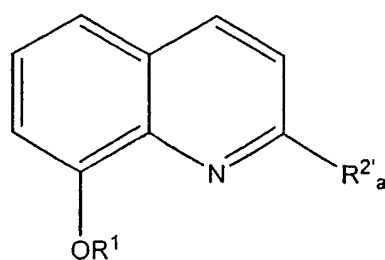
R^4b 和 R^5b 是相同的或者不同的，而且选自 H；任选取代的 C_{1-6} 烷

基;任选取代的 C_{2-6} 烯基;卤素;抗氧化剂;靶向部分, SO_3H ; $SO_2NR^{13}aR^{14}a$, 其中 $R^{13}a$ 和 $R^{14}a$ 如上述式 Ia 中所限定的;或 $OR^{15}b$, $SR^{15}b$ 或 $NR^{15}bR^{16}b$, 其中 $R^{15}b$ 和 $R^{16}b$ 是相同的或者不同的, 而且选自 H, 任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的 C_{1-6} 酰基, 任选取代的芳基或者任选取代的杂环基,

附带条件是, 当 R^1 和 R^3 是 H 时, 则 R^4b 不是 Cl 而且 R^5b 不是 I。

优选的式 Ia 的药剂如下:

(iii) 式 IIa



IIa

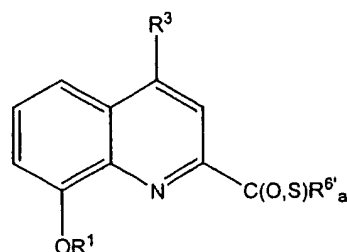
其中:

R^1 如上述式 I 中所限定的; 并且

$R^{2'}a$ 是任选取代的 C_{1-6} 烷基, 任选取代的 C_{2-6} 烯基, 任选取代的芳基或任选取代的杂环基。

式 IIa 可表示这样的药剂, 其中抗氧化剂部分连接于 8-羟基喹啉的 C2 位置, 以便暴露于助氧化环境中, 也即羟基, 结果产生具有增强的金属螯合特性的分子。

(iv) 式 IIIa



IIIa

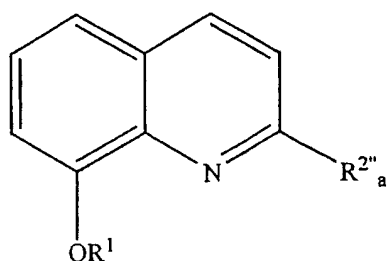
其中：

R^1 和 R^3 如上述式 I 中所限定的；并且

$R^{6'a}$ 是任选取代的 C_{1-6} 烷基，任选取代的 C_{2-6} 烯基，羟基， $OR^{7'a}$ ， $SR^{7'a}$ ， $N_2R^{7'a}R^{8'a}$ 或 $NR^{7'a}R^{8'a}$ ，其中 $R^{7'a}$ 和 $R^{8'a}$ 是相同的或不同的，而且选自 H，任选取代的 C_{1-6} 烷基，任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

式 IIIa 表示这样的药剂，其中亲水性酰胺部分连接于 8-羟基喹啉的 C2 位置，以便通常增强可溶性，并同时保持膜渗透性。式 IIIa 的药剂也显示增强的金属螯合特性。

(v) 式 IV



IVa

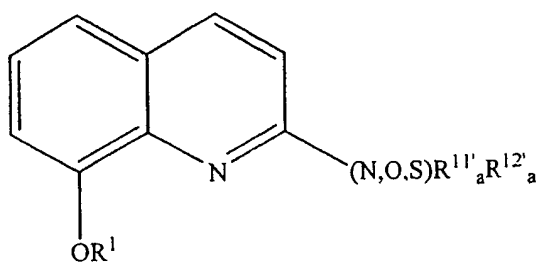
其中：

R^1 如上述式 I 中所限定的；并且

$R^{2'a}$ 是 CN； $CH_2NR^{9'a}R^{10'a}$ ， $HCNOR^{9'a}$ 或 $HCNNR^{9'a}R^{10'a}$ ，其中 $R^{9'a}$ 和 $R^{10'a}$ 是相同的或者不同的，而且选自 H，任选取代的 C_{1-6} 烷基，任选取代的烯基，任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

式 IVa 表示这样的药剂，其具有提高的金属螯合作用，和在下文所述的测定部分中具有最佳的活性。

(vi) 式 Va



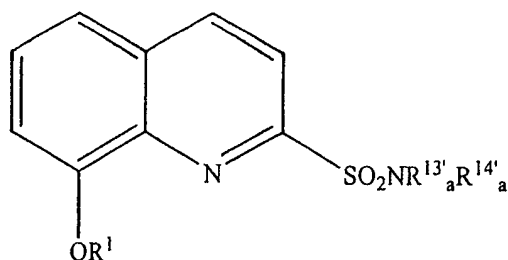
Va

其中：

R^1 如上述式 I 中所限定的；并且

$R^{11'a}$ 和 $R^{12'a}$ 是相同的或者不同的，而且选自 H，任选取代的 C_{1-6} 烷基，任选取代的 C_{2-6} 烯基，任选取代的芳基和任选取代的杂环基或者共同形成任选取代的杂环基。

(vii) 式 VIa



VIa

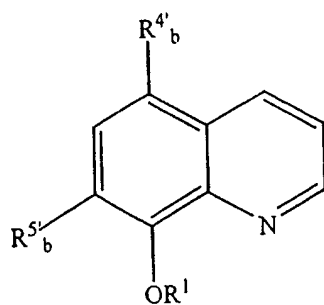
其中：

R^1 如上述式 I 中所限定的；并且

$R^{13'}_a$ 和 $R^{14'}_a$ 是相同的或者不同的，而且选自 H，任选取代的 C_{1-6} 烷基，任选取代的 C_{2-6} 烯基，任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

优选的式 Ib 的药剂如下：

(viii) 式 IIb



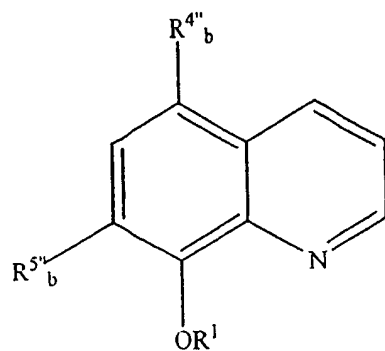
IIb

其中：

R^1 如上述式 I 中所限定的；并且

$R^{4'}_b$ 和 $R^{5'}_a$ 是相同的或者不同的，而且选自卤素， C_{1-6} 烷基， C_{2-6} 烯基，胺， SO_3H ，任选取代的芳基或者任选取代的杂环基。

(ix) 式 IIIb



IIIb

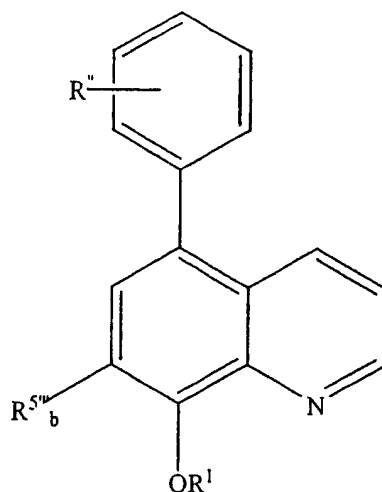
其中：

R^1 如上述式 I 中所限定的；

$R^{4''}$ 是氢或卤素；并且

$R^{5''}$ 是任选取代的芳基或任选取代的杂环基。

(x) 式 IVb



IVb

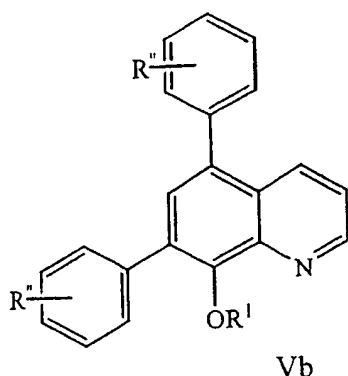
其中：

R^1 如上述式 I 中所限定的；

R'' 是 C_{1-6} 烷氧基，卤素， C_{1-6} 烷基， C_{2-6} 烯基或 C_{1-6} 卤代烷基；并且

$R^{5''}$ 是氢或卤素。

(xi) 式 Vb

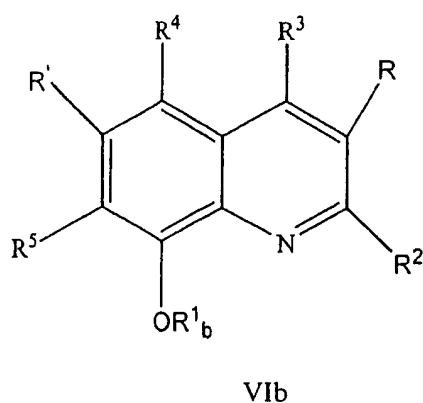


其中

R¹ 如上述式 I 中所限定的；并且

R'' 如上述式 IVb 中所限定的。

(xii) 式 VIb



其中：

R² 到 R⁵, R 和 R' 如上述式 I 中所限定的；并且

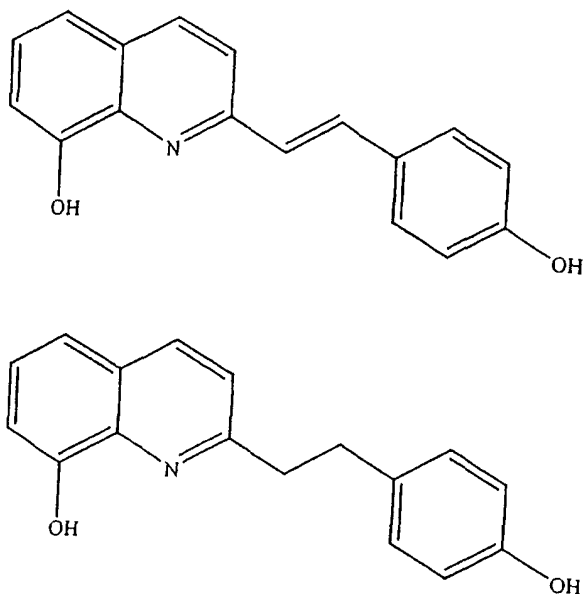
R¹ᵇ 是任选取代的 C₁-₆ 烷基, 任选取代的芳基, 任选取代的芳基酰基, C₁-₆ 烷基酰基或任选取代的杂环基。

式 VIb 表示这样的药剂, 其中喹啉上的 8-羟基被封闭以形成前体药物, 尤其是酯前体药物。8-羟基表示用于式 I 的药剂代谢的主要位点: 与葡萄糖醛酸或硫酸盐结合产生准备排泄的亲水性物质。这种结

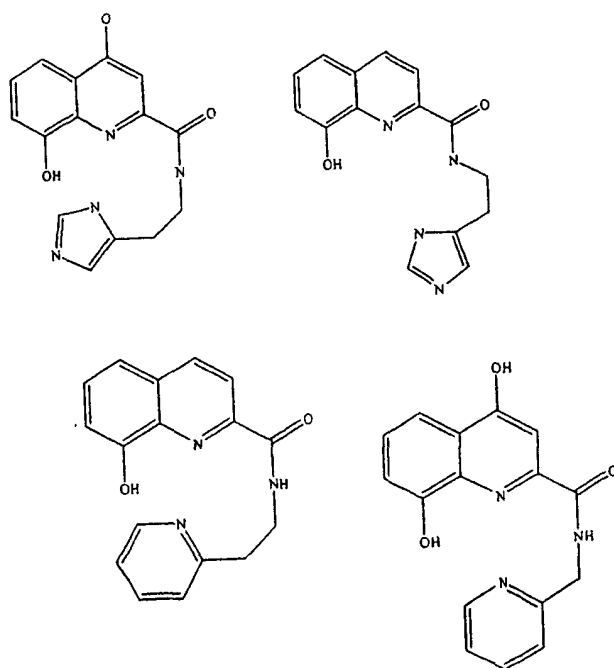
合物可能不通过血脑屏障。该酯前体药物可保护式 I 的药剂免于结合。组成血脑屏障的酯酶，然后在通过该屏障时释放 C8-羟基，以激活该化合物使它在中枢神经系统中发挥作用。

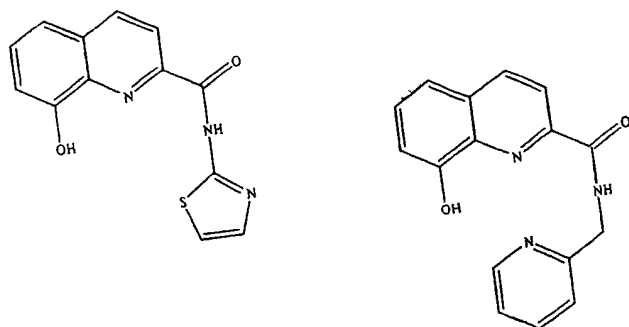
考虑到它们的神经学活性，尤其优选的药剂如下所示：

式 IIa

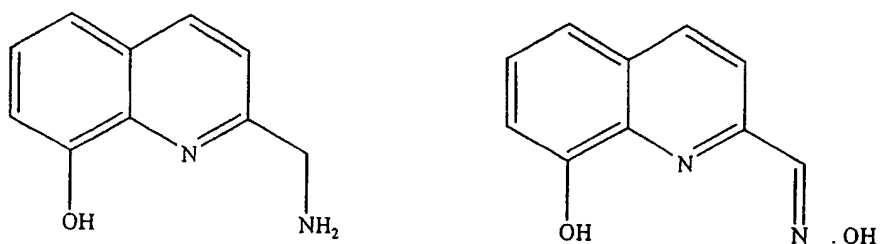


式 IIIa

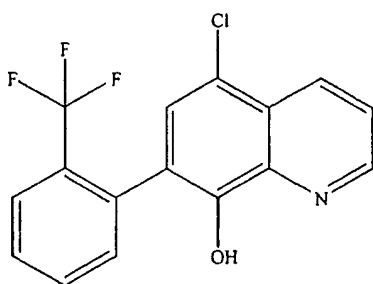




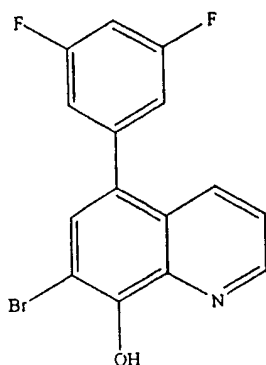
式 IVa



式 IIIb



式 IVb



在优选的实施方案中，本发明的药剂和方法导致增加的血清锌水平，和/或降低的血浆 $A\beta$ 水平。最优选地， $A\beta$ 是 $A\beta_{42}$ 。优选地，血清

铜水平不受影响。

这里涉及的“锌”，“铜”和“铁”，包括它们的离子形式如，但不限于 Zn^{++} ， Cu^{++} 和 Fe^{+++} 。

本发明还提供了这里公开的药剂，化合物和组合物作为神经治疗或神经保护剂，更优选地作为抗产生淀粉样蛋白的药剂，用于治疗和/或预防神经系统疾病和，尤其是包括认知功能衰退的疾病的用途。优选地，神经系统疾病是神经学淀粉样变性如 AD。

更进一步地，本发明包括这里公开的药剂，化合物和组合物在制备用于治疗和/或预防神经系统疾病，如神经学淀粉样变性的药物中的用途。

这里使用的术语“神经系统疾病”以其广义使用，指这样的疾病，其中神经系统的各种细胞类型退化和/或由于神经系统紊乱或损伤或暴露而已经受到损害。特别地，式 I 或 II 的化合物可用于治疗导致的疾病，其中由于外科手术，感染，暴露于毒性剂，肿瘤，营养缺乏或代谢失调而发生对神经系统细胞的损害。而且，式 I 或 II 的化合物可用于治疗神经系统紊乱的后遗症，如 AD，帕金森氏病，多发性硬化，肌萎缩性侧索硬化，癫痫症，药物滥用或药物成瘾（酒精，古柯碱，海洛因，安非他明等等），脊髓障碍和/或损伤，营养不良或神经视网膜退化（视网膜病）和外周神经病，如糖尿病性神经病和/或毒素诱导的外周神经病。

这里使用的术语“神经系统紊乱”，指其中神经元的完整性受到威胁的异常。当神经元细胞显示降低的存活或当神经元不再能传送信号时，神经元的完整性可能受到威胁。

“神经系统紊乱”还包括 MCI。

可用本发明的化合物治疗的神经系统紊乱，包括急性间歇性血紫质病；阿霉素-诱导的心肌病；AIDS 痴呆和 HIV-1 诱导的神经毒性；AD；肌萎缩性侧索硬化；动脉粥样硬化；白内障；大脑局部缺血；大脑麻痹；大脑肿瘤；化疗-诱导的器官损伤；顺氯氨铂-诱导的肾中毒性；冠状动脉旁路术外科手术；克-雅综合征和它的与“疯牛”病相关的新变体；糖尿病性神经病；唐氏先天愚症；溺水；癫痫症和外伤后癫痫；弗里德里希氏共济失调；额颞痴呆；青光眼；肾小球病；血色素沉着；血液透析；溶血；溶血性尿毒症综合症（韦氏病）；出血性中风；哈-施病；心脏病发作和再灌注损伤；亨廷顿氏疾病；雷维小体病；间歇性跛行；局部缺血性中风；炎症性肠病；黄斑变性；疟疾；甲醇-诱导的毒性；脑膜炎（无菌性和结核性）；运动神经元病；多发性硬化；多系统萎缩症；心肌局部缺血；瘤形成；帕金森氏病；围生期窒息；心包性假性肝硬变；进行性上核麻痹；放射治疗-诱导的器官损害；血管成形术后的再狭窄；视网膜病；老年性痴呆；精神分裂症；脓毒症；脓毒性休克；海绵状脑病；蛛网膜下出血/脑血管痉挛；硬脑膜下血肿；外科手术的损伤，包括神经外科；地中海贫血；短暂性脑缺血发作（TIA）；创伤性的脑损伤（TBI）；创伤性脊椎损伤；移植；血管痴呆；病毒性脑膜炎和病毒性脑炎。

另外，本发明的化合物还可用于增强其它治疗的效果，例如，增强脑来源的神经生长因子的神经保护效果。

本发明尤其涉及诱导中枢神经系统的氧化性损伤的疾病，包括急性和慢性神经系统紊乱如创伤性脑损伤，脊髓损伤，大脑的局部缺血，中风（局部缺血性和出血性），蛛网膜下出血/脑血管痉挛，大脑肿瘤，AD，克-雅综合征和它的与“疯牛”病相关的新变体，亨廷顿氏病，帕金森氏病，弗里德里希氏共济失调，白内障，伴有雷维小体形成的痴呆，

多系统萎缩症，哈-施病，弥漫性雷维小体疾病，肌萎缩性侧索硬化，运动神经元疾病和多发性硬化。

在本发明的所有方面中，神经系统紊乱优选地特征在于神经学淀粉样变性，其中神经学损害由淀粉样蛋白的沉淀引起。淀粉样蛋白可能由各种蛋白质或多肽前体形成，包括但不限于 A β ，突触核蛋白，亨廷顿蛋白和朊病毒蛋白。

因此，神经系统紊乱优选地选自氧化应激引起的神经系统疾病，散发性的或家族性的 AD，与唐氏先天愚症相关的痴呆，肌萎缩性侧索硬化，运动神经元疾病，白内障，帕金森氏病，克-雅综合征和它的与“疯牛”病相关的新变体，亨廷顿氏疾病，伴有雷维小体形成的痴呆，多系统萎缩症，哈-施疾病，由于中风的氧化应激引起的神经系统疾病，心血管冲击和/或糖尿病和弥漫性雷维小体病。

更优选地，神经学淀粉样变性是 A β -相关的疾病，如 AD 或与唐氏先天愚症相关的痴呆或家族性 AD 的常染色体显性形式的几种形式之一（St George-Hyslop, 2000 的综述, 上文）。最优选地，认知障碍是与氧化应激相关的神经系统紊乱。

“与氧化应激相关的神经系统紊乱”，包括由过量自由基或活性氧种类的产生而引起或加重的疾病。

在本发明的所有方面的一个特别优选的实施方案中，治疗之前，个体患有中度或严重损伤的认知功能，如通过 AD Assessment Scale (ADAS)-cog 测试确定的，例如，ADAS-cog 值为 25 或更大，其中小于 25 的值被认为是轻微到中度认知功能障碍如初步或轻微认知功能障碍或记忆丧失。

在本发明的所有方面中，结合剂优选为特定的金属结合剂，其能

与金属离子如 Zn^{++} , Cu^{++} 或 Fe^{3+} 离子结合。更优选地, 该特定的结合剂是如这里提供的 8-羟基喹啉或其衍生物。最优选地, 该金属结合剂是 CQ。

在本发明的所有方面中, 金属结合剂优选以 100 到 1,500 mg/天, 更优选以 250 到 750 mg/天的剂量范围施用。这可任选地以分开的剂量施用。而且, 可以调整剂量, 以便它以每 2 天, 每 3 天, 每 4 天, 每 5 天或每周或每月给予。

除了减缓或抑制个体的认知衰退之外, 本发明的方法和药剂也可能适于用于治疗或预防神经系统紊乱, 或可能适于用于减轻神经系统紊乱的症状。本发明的药剂和化合物能提供患者所经历的认知衰退的至少部分逆转。如果施用给确定为具有神经系统紊乱增加的风险或诱因, 或显示认知衰退如 MCI 的初步临床表现的个体, 除了减缓或降低认知衰退的速度之外, 这里公开的方法和化合物还可能预防或延迟临床症状的开始。

痴呆通常直到已经出现一种或多种警告症状才能诊断出来。这些症状构成了美国神经病学学院定义的 MCI 综合症, 指患有记忆损伤, 但是其它的功能较好, 而且不符合痴呆的临床标准的个体的临床状态 (Petersen et al. , Neurology 56 : 1133-1142, 2001)。人们普遍接受, MCI 是与增加的自由基水平相关的许多疾病如 AD 和帕金森氏病的前体, 而且可能也是由其它的病理原因引起的痴呆的前体。MCI 的症状包括:

- (i) 影响工作技能的记忆丧失;
- (ii) 执行熟悉的任务困难;
- (iii) 语言上的问题;
- (iv) 时间和地点的定向障碍 (迷路);
- (v) 判断力较差或降低;

- (vi) 抽象思维有问题;
- (vii) 东西放错地方;
- (viii) 情绪或行为方面的改变;
- (ix) 个性改变; 和/或
- (x) 能动性丧失。

MCI 可以使用常规的认知筛选试验来检测, 如微型精神状态测验, 和记忆损伤筛选和神经心理学筛选组。

本发明的化合物和组合物可通过任何合适的途径施用, 而且本领域的技术人员能容易地确定用于待治疗疾病的最适合的途径和剂量。剂量将由主治医师斟酌决定, 而且取决于待治疗疾病的性质和状态, 待治疗个体的年龄和总的健康状态, 给药途径, 和可能已经施行的任何以前的治疗。

用于制备药物组合物的方法和药物载体是本领域熟知的, 如教科书如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition, Williams & Wilkins, Pennsylvania, USA 中所述。

载体或稀释剂及其它赋形剂将取决于给药途径和, 再次, 本领域的技术人员能容易地确定对于每个具体病例最适合的制剂。

本发明的化合物任选地可与适于治疗该疾病的一种或多种其它的药学活性剂一起施用, 也即, 它可与一种或多种这类药剂一起, 之前或之后给予。例如, 当疾病是 β -淀粉样蛋白相关疾病, 尤其是 AD 时, 化合物可结合用另一种药剂进行治疗一起使用, 该药剂为如乙酰胆碱酯酶活性部位抑制剂, 例如, 苯丝氨酸 (phenserine), 加兰他敏或他克林; 抗氧化剂, 如维生素 E 或维生素 C; 消炎剂, 如氟比洛芬或布洛芬, 任选地进行修饰以释放一氧化氮(例如, NCX-2216, NicOx

生产)，或雌激素如 17- β -雌二醇。该药剂也可以是维生素 B12。

本发明包括各种药物组合物用于改善疾病的用途。药物组合物可通过，使用载体，赋形剂和添加剂或辅剂，使本发明的药剂和任选地一种或多种其它的药物活性剂成为，或把本发明的药剂和一种或多种其它的药物活性剂组合成适于施用给个体的形式。

经常使用的载体或辅剂包括碳酸镁，二氧化钛，乳糖，甘露糖醇及其它糖，滑石，牛乳蛋白质，明胶，淀粉，维生素，纤维素和它的衍生物，动植物油，聚乙二醇和溶剂，如无菌水，醇类，甘油和多元醇类。静脉内载体包括液体和营养补充剂。防腐剂包括抗微生物剂，抗氧化剂，金属结合剂和惰性气体。其它的药学上可接受的载体包括如例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 2000, 上文和 The British National Formulary 43rd Ed. (British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2002, <<http://bnf.rhn.net>>中所述的水溶液，无毒的赋形剂，包括盐，防腐剂，缓冲液等等。药物组合物的各种组分的 pH 和确切浓度可根据本领域的常规技术进行调整；参见 Goodman and Gilman's "The Pharmacological Basis for Therapeutics" (7th Ed., 1985)。

药物组合物优选以剂量单位制备和施用。固体的剂量单位包括片剂，胶囊和栓剂。治疗个体时，根据化合物的活性，给药方式，紊乱的性质和严重程度，个体的年龄和体重，可使用不同的每日剂量。然而，在某些情况下，较高的或较低的每日剂量可能是合适的。每日剂量既可以通过以单独剂量单位或几个较小的剂量单位的形式单次给药，也可以通过分剂量以特定的间隔多次给药来进行施用。

具体实施方式

本发明更进一步地通过以下的非限制性实施例来进行描述。

实施例 1

荧光 H_2O_2 测定

在存在铜时, 基于二氯荧光黄双醋酸酯 (DCF; Molecular Probes, Eugene OR), 用荧光测定法测试试验化合物抑制由 $A\beta$ 产生过氧化氢的能力。溶于 100%二甲基亚砜 (预先用氩于 20°C 净化 2 小时) 的 DCF 溶液 (5 mM), 在存在 0.25 M NaOH 时, 脱乙酰 30 分钟, 并于 pH 7.4 中和到终浓度为 1 mM。制备 1 μ M, pH 7.4 的辣根过氧化物酶 (HRP) 储备溶液。反应在 PBS, pH 7.4 中, 在 96 孔板中进行 (总体积 = 250 μ l/孔)。反应溶液包含浓度范围为 50 nM 到 1 μ M 的 $A\beta$ 1-42, 铜-甘氨酸螯合物 (Cu-Gly, 通过以 1:6 的比率添加 $CuCl_2$ 到甘氨酸中, 并以 2Cu-Gly:1 $A\beta$ 的比例添加到 $A\beta$ 中来制备), 还原剂包括多巴胺 (5 μ M) 或抗坏血酸, 脱乙酰的 DCF 100 μ M, 和 HRP, 0.1 μ M。也可存在 1-10 μ M 的 EDTA 或另一种螯合剂或金属结合剂, 作为游离铜的对照, 但是不需要测定其功能。反应混合物于 37°C 温育 60 分钟。可包括溶于 PBS pH 7.4 中的过氧化氢酶 (4000 单位/ ml) 和 H_2O_2 (1-2.5 μ M) 标准品作为阳性对照。分别利用 485 nm 和 530 nm 的激发和发射滤光器, 使用平板读数计, 记录荧光。可通过与 H_2O_2 标准品的荧光进行比较来确定 H_2O_2 浓度。对 $A\beta$ 产生 H_2O_2 的抑制通过在测试孔中包括给定浓度的测试化合物来进行测定。

实施例 2

神经毒性测定

初生皮层的神经元培养物

如前面所述 (White et al., J Neuroscience 18: 6207-6217, 1998) 制备皮层培养物。切除胚胎期的 14 天 BL6Jx129sv 小鼠的皮层, 解剖除去脑膜, 并在 0.025% w/v 的胰蛋白酶中进行分离。将分离的细胞置于 24 孔培养平板 (Greiner GmbH, Austria) 中, 其密度为在含有 10% v/v FCS 和 10% v/v HS 的 MEM 中 2×10^6 细胞/mL。培养物于 37°C 保持

在 5% v/v 的 CO₂ 中。在实验之前，培养基替换为 MEM 加上 N2 补充物。

初生小脑的颗粒神经元培养物

切除来自出生之后 5-6 天 (P5-6) 小鼠的小脑，解剖除去脑膜，并在 0.025% w/v 胰蛋白酶中进行分离。将小脑的颗粒神经元 (CGN) 置于 24 孔培养平板中，其密度为在补充有 10% w/v FCS, 2 mM 谷氨酰胺和 25 mM KCl 的 BME (Gibco BRL) 中 350 000 细胞/ cm²。添加硫酸庆大霉素 (100 µg/mL) 到所有的平板培养基中，培养物于 37°C 保持在 5% v/v CO₂ 中。

实施例 3

细胞生活力测定

细胞生活力的 MTT 测定

细胞生活力使用 MTT 测定法进行确定。培养基替换为溶于对照盐溶液 (包含 154 mM NaCl, 5.6 mM KCl, 2.3 mM CaCl₂, 1.0 mM MgCl₂, 3.6 mM NaHCO₃, 5 mM HEPES 和 5.6 mM 葡萄糖, pH 7.4 的 Locke ' s 缓冲液) 的 0.6 mg/mL MTT 30 分钟。除去 MTT, 细胞用二甲亚砜溶解。100µl 等分试样用分光光度计于 570 nm 处进行测量。

细胞生活力的 LDH 测定

使用乳酸脱氢酶 (LDH) 细胞毒性检测药剂盒 (Boehringer Ingelheim), 根据制造商的指导, 测定来自无血清和细胞碎片的培养物上清液的细胞死亡。

实施例 4

测定低 AB 浓度时的神经毒性

按照具有下列改进的 White 等的方案 (1998, 上文), 制备皮层细胞:

(A) 在第四到第五天, 将培养基改变为加上 B27 但是减去抗氧化剂的

神经基础培养基;

(B) 在第八到第九天, 将培养基替换为含有测试试剂的培养基, 包括 A β (200-1000 nM), Cu-Gly (400-2000 nM) 和多巴胺 (溶于 PBS 的 5-20 μ M)。

自始至终包括 EDTA (溶于 PBS 的 10 μ M), 以消除游离铜和多巴胺之间的不希望的反应。然而, 当测试新药时, 建议在 A β -Cu-多巴胺混合物中不包括 EDTA。对照中, 多巴胺体积替换为 PBS 7.4; Cu-Gly 体积替换为水, A β 体积替换为水。

通过把肽溶解于水中, 以 13,000 rpm 离心 3-5 分钟来制备 A β 肽溶液。小心地收获上清液, 而且它的浓度通过 214 nm 处的吸光度, 使用吸光度标准曲线进行测定。

以下是混合顺序和每个化合物的近似体积的例子:

对于 1000 μ L 的终体积, 进行下列顺序:

使用 6.3 μ L 的 A β 原液 (80 μ M), 添加 A β 以产生 500 nM 的终浓度。

然后, 添加 10 μ L 的 Cu-Gly 原液 (100 μ M) 以产生 1000 nM 的终浓度。添加 68.7 μ L 的 H₂O 和 10 μ L 的 EDTA 1 mM, 以产生 10 μ M 终浓度的 EDTA。然后添加加有 B27, 没有抗氧化剂或 Locke 's 缓冲液的 900 μ L 的神经基础培养基, 混合溶液。然后添加 5 μ L 新制备的多巴胺原液 (1 mM), 以产生 5 μ M 的最终多巴胺浓度, 并再次混合溶液。将培养物的每个孔中的细胞培养基替换为 250 μ L 的混合物, 培养物温育 16-24 h (37°C)。温育之后, 每个孔用 Locke 's 缓冲液轻轻地洗涤两次, 然后把 Locke 's 缓冲液替换为神经基础培养基 (250 μ L)。包括 3 个空的孔作为背景对照。

添加 25 μL MTS 原液到每个孔中, 37°C 温育 2-4 小时。然后在 490nm 处读取吸光度。

实施例 5

天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶测定

为了测定神经元培养物中的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶活性, 除去生长培养基, 细胞用对照盐溶液 (pH 7.4) 洗涤两次, 而且直接添加冰冷的细胞提取缓冲液到培养物中。提取缓冲液由 20 mM Tris (pH 7.4), 1 mM 蔗糖, 0.25 mM EDTA, 1 mM 二硫苏糖醇 (DTT), 0.5 mM PMSF, 1% v/v Triton X-100 (Tx-100) 和 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的胃酶抑制剂和抑肽酶组成。在冰上温育 15 分钟以后, 除去提取缓冲液, 在微量离心机中 4°C 离心 5 分钟, 并添加 100 μL 的上清液到 96 孔板的每个孔中。添加 100 μL 的 200 μM 底物 (对天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3, 6 和 8 分别为 DEVD-pNA, VEID-pNA 或者 IETD-pNA) 到每个孔中, 以产生终浓度为 100 μM 的底物。将平板于 37°C 温育 2, 4, 6 或 24 小时, 于 415 nm 波长测定吸光度 (Abs415)。把吸光度读数与 pNA 单独的已知标准进行比较。

实施例 6

膜联蛋白 V 测定

为了测定与细胞结合的膜联蛋白 V 的水平, 培养物用对照盐溶液 (pH 7.4) 洗涤两次, 接着添加在对照盐溶液 (pH 7.4) 中浓度大约为 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的膜联蛋白 V-FITC。同时添加碘化丙锭 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 到培养物中。细胞在黑暗中于室温温育 30 分钟, 接着用新鲜的对照盐溶液洗涤 3 次。FITC 荧光分析 (激发波长 488 nm, 发射波长 510 nm), 使用莱卡 DMIRB 显微镜进行确定。使用 ASA400 彩色胶片, 利用莱卡 MPS 60 摄影机附件拍照, 将底片扫描成 Adobe Photoshop v2.0.1。

实施例 7

脂蛋白氧化测定

可使用两种不同的金属介导的脂质过氧化作用的测定法。第一种测定法包括测量金属化蛋白质的氧化活性。这可通过混合透析的金属化或天然蛋白质（以指定的浓度）与 0.5 mg/mL LDL 24 小时，来进行确定。使用脂质过氧化作用测定药剂盒 (LPO 486, Oxis International Inc. Portland, OR)，根据药剂盒用法说明，来测量脂质过氧化作用 (LPO)。通过与单独 LDL (100% LPO) 的吸光度 (486 nm) 进行比较，来确定 LPO 的水平。第二种测定法用于在存在游离的，非蛋白质结合铜时，测量天然蛋白质的 LPO 活性。这包括添加非金属化肽 (140 μ M) 到 0.5 mg/mL LDL 与 20 μ M Cu-gly 中，测定金属化蛋白质的 LPO。通过与 LDL + Cu-gly (100% LPO) 的吸光度 (486 nm) 进行比较，来确定 LPO 的水平。作为负对照，LDL 也暴露于透析的 Cu-gly 溶液中，该溶液相当于用于铜-金属化蛋白质的溶液。

实施例 8

Cu-金属化蛋白质诱导的细胞毒性

将蛋白质或合成肽，如 A β 或突触核蛋白，与金属-甘氨酸溶液，以等摩尔或 2 倍金属与蛋白质浓度进行混合。将金属-蛋白质混合物于 37°C 温育过夜，然后使用 3,500 千道尔顿截留的小透析杯 (Pierce, Rockford, IL) 进行充分透析 (室温，24 小时更换 2 次 dH₂O (3 L/每次更换))。用 PBS pH 7.4 透析蛋白质，得到具有与 dH₂O 透析相同活性的金属化蛋白质。

为了确定它们的神经毒性作用，添加金属化蛋白质，天然蛋白质或肽到 2 日龄的初生皮层神经元培养物中。培养物也暴露于 Cu-gly (5 或 10 μ M) 或 LDL。阳性对照培养物用 Cu-gly + LDL 或 LPO 产物，4-羟基-壬醇 (HNE, Sigma Chemicals) 进行处理。使用乳酸脱氢酶 (LDH) 测定药剂盒 (Roche Molecular Biochemicals, Nunawading,

Australia), 根据制造商的指导, 测定培养物的细胞死亡。

实施例 9

AB 介导的溶酶体酸化丧失的吖啶橙测定

培养的小鼠皮层神经元用 AB1-42 (20 μ M) 处理 16 小时, 然后于 37°C 用 5 mg/ml 的吖啶橙(AO) 染色 5 分钟。37°C 15 分钟。AO-诱导的荧光用红色滤光片在荧光显微镜上进行测量。AO 是一种趋溶酶体弱碱, 其在核内体/溶酶体区室中积累, 并在温育期间显示橙色荧光。只要在溶酶体膜上存在实质性的质子梯度, AO 就在溶酶体内部整合。如通过在 16-24 小时内的橙色荧光丧失所表明的, 细胞用 AB1-42 进行处理, 破坏了溶酶体膜质子梯度, 并把 AO 重新定位到细胞溶质中。

实施例 10

脑淀粉样蛋白的溶解测定

进行该测定, 以便确定测试化合物动员 AB 从来自死后的人 AD 脑组织提取物的难溶阶段到可溶阶段的能力。

高达 0.5 g 的带有空斑而没有脑膜的皮层, 使用 DIAX 900 均质器(Heudolph and Co, Kelheim, Germany)或其它适合的装置, 在 2 ml 冰冷的磷酸缓冲盐溶液, pH 7.4 中以全速均质 3 个 30 秒。为了获得磷酸缓冲盐溶液可提取的级分, 匀浆以 100,000 x g 离心 30 分钟, 并去除上清液。上清液, 冷冻干燥并重悬或以未浓缩形式, 溶于 200 μ l Tris-Tricine 十二烷基硫酸钠(SDS)样品缓冲液 pH 8.3 中, 该缓冲液含有 8% w/v SDS, 10% v/v 2-巯基乙醇。等分试样(10 μ l)然后在进行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳之前, 沸腾 10 分钟。皮层样品的不溶性级分通过把最初沉淀的样品重悬于 1 ml 磷酸缓冲盐溶液中而获得。该悬浮液的 50 μ l 等分试样然后在 200 ml 的上述样品缓冲液中沸腾。

把适当稀释的样品上样到 10%到 20%梯度凝胶(Novex, San Diego,

CA) 中, 进行 Tris-Tricine 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 接着, 转移到 0.2- μm 的硝酸纤维素膜 (Bio-Rad, Hercules, CA) 上。使用单克隆抗体 W02 检测 A β , 其检测 5 到 8, 17 位残基 (或另外适合的抗体), 连同辣根过氧化物酶-缀合的兔抗小鼠 IgG (Dako, Denmark), 并使用增强的化学发光 (例如 ECL; Amersham Life Science, Buckinghamshire, UK) 显象。每个凝胶包括含有 0.5, 1, 和 2 ng 合成 A β 40 (Keck Laboratory, Yale University, New Haven, CT) 的 3 个泳道作为参照标准。

印迹膜使用适合的成像系统如 UVP 凝胶文献编制系统进行扫描, 并使用适合的软件, 例如, UVP Labworks 进行密度测定。膜/扫描仪的动态范围使用阶式板 (No. 911ST600, Kodak, Rochester NY) 进行确定, 该阶式板为制造商曝光的校准膜以提供已知增加强度的等级。单和二聚 A β 带光密度分析的可计量的信号强度范围是基于与通过阶式板的扫描和密度测定获得的曲线进行的比较。初步测定以后信号强度较低的样品使用合成的较低或较高浓度的标准品进行再测定。

所有的样品至少分析两次, 对凝胶上样和稀释度进行调节以在标准曲线的可计量区域范围内。可溶与不溶性 A β 的比例可用于与已知化合物如 2, 9-二甲基-4, 7-二苯基-1, 10-菲罗啉或氯碘羟喹的效率相比, 确定测试化合物的提取效率。

实施例 11

金属分配

为了测定对不同金属, 包括锌和铜的分配的影响, 在存在测试化合物时提取脑组织之后, 如淀粉样蛋白溶解测定中所述制备来自人脑组织提取物的可溶和不溶性级分。必要时用硝酸和/或过氧化氢进行合适的预处理后, 接着通过诱导地-偶联血浆质谱分析来分析 2 个级分中的金属。

实施例 12

转基因动物中药剂的施用对 A β 沉淀的影响

转基因小鼠模型用于许多神经系统紊乱,包括 AD (Games et al., Nature 373(6514): 523-527, 1995; Hsiao et al., Science 274(5284): 99-102, 1996); 帕金森氏病 (Masliah et al., Science 287 (5456) : 1265-1269, 2000); 家族性肌萎缩性侧索硬化 (ALS) (Gurney et al., Science 264 (5166) : 1772-1775, 1994); 亨廷顿氏病 (Reddy et al., Nat. Genet. 20 (2) : 198-202, 1998) 和 克-雅综合征 (CJD) (Telling et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91 (21) : 9936-9940, 1994)。这些动物模型适于测试本发明的方法。

使用品系 APP2576 的转基因小鼠 (Hsiao et al., 1996, 上文)。选择 12 到 15 月龄的雌性小鼠,并分组进行处理。在该年龄,预计存在淀粉样蛋白沉淀。为了对预防进行研究,可使用年幼的动物,例如,8 到 9 月龄的小鼠。使用雌性小鼠,因为它们通常在比雄性较早的年龄产生淀粉样蛋白沉淀。

将药剂悬浮于 0.05% 的羧甲基纤维素中,并通过强饲法进行施用。对于 CQ, 30 mg/kg 体重的剂量是有效的 (Cherny et al., Neuron 30: 665-676, 2001); 对于其它药剂,根据个别药剂的可溶性和生物利用率,剂量可能改变。在大多数情况下,预计 10-100 mg/kg 体重的剂量是适合的,尽管对于一些药剂,剂量可以低于或高于这个范围。

每隔一段时间将小鼠处死,并对它们的脑进行检验以确定该处理是否降低了脑淀粉样蛋白形成,并鉴定最有效的给药方案。使用校准的 Western 印迹,确定脑和血清中可溶和不溶性 A β 的水平。对脑中 A β 空斑量进行免疫组织化学检验。

使用 Morris 水迷宫,根据标准方法,对每组中的其它小鼠进行

长达 8 个月的认知特性测试。使用五点整体量度 (five point integer scale)，其能主观地评定综合的各种特性，包括运动活性，警觉性和总的健康征兆，盲试操作者每天测量动物的总的健康和良好状态。

实施例 13

氯碘羟喹对 AD 进行治疗的临床试验

根据初步临床资料，制备 II 期临床试验的 CQ 用于 AD 的治疗。用于该 II 期研究的内在标准，把区域靶向 ADAS-cog 规模 (20-45)，其中患者中度精神错乱，仍然生活在家中，但是预期在接着的 12 个月中加速恶化，作为 AD 自然史的部分。由于最初的结果是有效的，所以选择了三重-盲试设计。

几个理由驱使剂量的选择。在对转基因小鼠的以前的研究中，每天口服 20-30 mg/kg 剂量的 CQ，持续每周 5 天，2 到 3 个月的治疗以后，能显著有效地抑制 A β 积累。1500-2250 mg/天的人等效剂量接近 CQ 的规定抗生素剂量 (600 mg 口服，每日四次)。不过，这种剂量大小，施用数月，将提高对 SMON 毒性的关注。

由于 CQ 与葡萄糖苷酸缀合，接着肾排泄，因此存在一些忧虑，即老年人的血液水平可能通过效率低的肝脏代谢而升高，甚至更进一步地要强迫施用建议的剂量。因此，选择谨慎的剂量逐步上升计划，以最大化检测结果测量改变的机会，同时最小化副作用的风险。3.3 mg/kg/天的开始剂量，假定 75 kg 平均重量，在转基因小鼠模型中相同数量级的有效量范围内，但是仅仅为大约十分之一的抗生素剂量。

因为没有来自转基因小鼠小于 20 mg/kg/天的剂量有效性研究的数据，有人提出有益的影响可能在小鼠研究期间需要长于 9-12 周的疗程 (Cherny et al. , 2001, 上文)。因此，选择以平均剂量进行 36 周的试验长度，该剂量大约为转基因小鼠中有效剂量的三分之一。10

mg/kg/天的终剂量是小鼠中有效剂量的一半。

36 个患者是随机的 [18 个空白对照剂和 18 个氯碘羟喹 (CQ)]。对 33 个患者进行每个计划分析长达 24 周,对 32 个患者进行每个计划分析 36 周。两组都相似的超过大多数人口统计的,生物学和临床变量的基线。治疗的影响在受到较严重影响的组中是统计学上显著的 (基线 ADAS-Cog ≥ 25),但是在受到不太严重影响的组中是统计学上不显著的 (ADAS-Cog ≤ 25)。在受到较严重影响的组中的影响是由于利用空白对照剂 ADAS-Cog 分数显著增加,而在 CQ 组中几乎没有增加。在受到不太严重影响的患者中,ADAS-Cog 分数只有较小的增加出现在空白对照剂和 CQ 组中。CQ 组中血浆 $A\beta_{42}$ 降低,而空白对照剂组血浆 $A\beta_{42}$ 增加。血浆锌水平提高 30%。药物是安全的,而且参与者能较好地耐受。

实施例 14

方法

伦理问题

按照澳大利亚共同体和维多利亚州法律,该法律涉及同意个体,该个体的认知功能削弱到不能作出有知识的判断力或决定的程度,每个参与者可以获得维多利亚市民和行政法庭执行的“同意专门的程序”。而且,根据维多利亚保护法,可从所有的护理者获得第三者的同意。在通俗易懂的语言声明中详细描述了 SMON,在表示赞同的时候,与患者和护理者都进行了口头讨论。由于部分有效的治疗现在可用于 AD,认为仅仅使比较组在空白对照剂上是不道德的;因此,两个治疗组在研究期间都置于多奈哌齐上。该研究经皇家墨尔本医院研究基金会临床研究和道德委员会批准。

研究群体

该研究在维多利亚的精神卫生研究所 AD 临床试验单位和皇家墨

尔本医院进行。

研究中的内在标准为：

- (a) 有知识的同意；
- (b) 通过 NINCDS-ADRDA 标准 (McKhann et al. Neurology 34 : 939-944, 1984) 进行可能 AD 的诊断；
- (c) 20-45 个包含者的 AD 判定尺度-认知 (ADAS-Cog) 分数 (Rosen et al. , Am. J. Psychiatry 141 : 1356-1364, 1984) ；
- (d) 10-24 个包含者的微型精神状态测验 (MMSE) 分数 (Folstein et al., J. Psychiatr. Res. 12 : 189-198, 1975)；
- (e) 用 5 mg 或 10mg 多奈哌齐盐酸盐持续至少 6 个月；
- (f) 亲属或护理者愿意而且能够支持该试验；
- (g) 能完成试验检验；和
- (h) 最初的感觉功能完好。

所有的女性患者都是经绝后的。

如果患者具有对 CQ 过敏的历史；外周神经病或视觉神经病的历史或临床迹象；同时存在疾病或继往史，其可能已经影响认知功能或神经传导，包括酒精滥用或依赖；代谢缺陷 (例如，不稳定的甲状腺机能障碍)；感染神经营养性生物体如梅毒, HIV, CMV, 或 EBV；根据 DSM-IV

标准的当前主要压抑事件；同时存在可能混淆可逆事件模式的疾病，如糖尿病，未经治疗的维生素 B12 或叶酸缺乏，溃疡性结肠炎，克罗恩氏病，慢性腹泻，或多发性硬化；其它的同时存在可能危害患者的内科疾病（如果她/他将参与临床试验），如赘生物现在是活动性的或可能复发（除了非黑素瘤皮肤癌），免疫抑制历史，胃肠吸收障碍，高血压 (BP>180 mm Hg 心脏收缩或>95 mm Hg 心脏舒张)，心力衰竭（端坐呼吸，JVP>5cm，或需要环利尿药处方的外围浮肿），在最近 6 个月或 Hachinski 分数 ≥ 6 的中风历史，血红蛋白>低于正常范围下限 20%，提高的白细胞计数（高于参考范围 20%），中性白细胞减少（白细胞计数<2.5），异常的肝功能试验（>参考范围上限 50%），异常的肌酐清除率（<参考范围的 75%），异常的空腹血糖（>正常范围上限的 50%），异常的甲状腺功能 (TSH 或 T4 >外部参照范围 20%)，或阳性甲型，乙型或丙型肝炎 IgM，则排除这样的患者。

在基线获得下列因素，以确定它们是否与测量结果相关：年龄，性别，发病前的 IQ（从国家成人阅读测验 (NART) 估计），教育年度，血清多奈哌齐盐酸盐和脱脂蛋白 E (ApoE) 异型。

研究设计

研究是三重盲试的，空白对照剂-控制的，随机化设计。征集 36 个患者和他们的护理者参与，患者随机地接受 CQ 或者空白对照剂；每组 18 个患者。研究的持续时间为 36 周。CQ 剂量为从 0-12 周，125 mg 每天两次，增加到从 13-24 周 250 mg 每天两次，和最后，从 25-36 周 375 mg 每天两次。

所有的患者在征集之前，用多奈哌齐盐酸盐治疗至少 6 个月。多奈哌齐的剂量通过每个患者的医师最佳化，以最大化临床益处和最小化副作用。在研究期间保持该剂量，如果以正规检查，多奈哌齐的剂量由于任何原因需要改变，则患者将退出研究。

研究药物和空白对照剂为肠溶衣胶囊（125 mg 是蓝色的，250 mg 是褐色的），在 6 个区组中是随机的。增加到 250 mg 每天两次之后，以每剂量 2 x 125 mg 呈递；增加到 375 mg 之后，以每剂量 1 x 125 mg 和 1 x 250 mg 每天两次呈递。这将允许在每种情况中剂量减少 125 mg，也即，到以前的剂量，如果患者不能耐受增加研究药物或空白对照剂的剂量。

研究方法

筛选程序由完全的病史，完全的身体，神经学和眼科检查，血液和尿检验以及心理测验测试 (ADAS-Cog, MMSE) 组成，以证实患者具备用于研究的资格。在筛选和基线观察之间进行神经传导测试和视觉诱发反应，以提供基线测量和排除患有未诊断的外周神经病或视力障碍的患者。收集血液进行 ApoE 异型分析，并在随机化之前，测定 CQ，金属和 Aβ 的基线血浆水平。

研究持续 36 周，进行 13 个观察（包括筛选）。对合格的个体进行随机化，以接受 CQ 或者空白对照剂。所有患者以多奈哌齐的记录剂量继续他们的研究，所有的患者每 4 周接受 100μg 维生素 B 12 IM。

结果测量

初级功效变量是基线分数在 AD 判定尺度 (ADAS) 中的变化，其在基线和在第 4，12，24 和 36 周进行。选择此读数用于用当前治疗剂，如多奈哌齐的治疗效果的可比性，对多奈哌齐功效试验也使用 ADAS 作为它们的初级结果测量 (Rogers et al., Neurology 50 : 136-145, 1998)。尽管许多的神经心理学测试可能被认为是次级测量，但是必须避免在检查中使个体疲劳。因此，进行的唯一其它的认知测试是微型精神状态测验 (MMSE)，其较好表征而且容易执行。基于临床医师的探询印象的改变 (CIBIC)，主观的观察指标，其也用于乙酰胆碱酯酶抑制剂的功效试验，在基线和在第 12, 24 和 36 周，由不是研究组成员的独

立研究人员进行。用于测量血浆 Alb 和血浆锌和铜的血样都通过肘窝静脉穿刺，每 4 周采取一次。

治疗药物监控

CQ 药品测定在第 12, 24 和 36 周进行 6 小时。在施用 CQ 之前，通过肝素化留置导管，在这些天获得患者的血液，然后在用药之后 2, 4 和 6 小时再次抽血。进行这些以使得药物动力学数据与其它结果的测量相关。

安全测量

向由与该研究无关的医师组成的安全监察委员会汇报标准的有害事件，以便以 3 个月的间隔和在紧急情况检查有害事件。在基线后，在 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 26, 28, 32 和 36 周进行安全观察。对患者和护理者询问自从上次观察，可能已经出现在患者的健康或药物中的任何改变。在每次观察中，记录标准的生化，肾和肝功能，全血检查，血清维生素 B12 和叶酸水平，血压和重量。在每次观察时进行神经学检查，以评估外周神经病和视觉神经病，而且在第 18 周和试验完成之后 2 周，在筛选时进行视觉诱发反应，神经传导研究和完全眼科检查（视觉灵敏度，色觉，氯二甲甲胍检查和视野）。在基线和在第 12 和 24 周进行 ECG。

延伸研究

完成 II 期试验的所有患者在 48 周时应邀继续 CQ 的预期的，开放标记研究。所有的患者分派接受 CQ 125 mg 每天二次，2 周之后增加到 250 mg 每天二次，然后 4 周为 375 mg BD，同时保持多奈哌齐和维生素 B12。在延伸阶段中根据调查人员的临床判断，把在盲试阶段未能耐受剂量增加超过 250 mg/天，500 mg/天和 750 mg/天剂量的患者，置于超过预先获得剂量的最高可耐受剂量。结果和安全测量与盲试阶段的相同。延伸研究的长度基于完成盲试 II 期临床试验所需时间

的估计，以便个体将能继续摄取药物直到他们可能被告知试验结果。

数据准备和统计学分析

在 6 个区组中，通过药物技术机构进行隐藏的随机化，该机构是一个与该研究无关的团体。独立的数据监控公司检验遗漏和确认以临床病例报告形成的记录，并把数据重登到完成确认和一致性检验的 Microsoft Access® 中。分析之前，每个患者的随机化组被标记为‘A’或‘B’。这确保进行盲试个体随机化分组的初级分析，由此进行三重盲试。

二向方差和协方差分析用于分析分组的主要结果变量（治疗对空白对照剂），作为个体之间的因子和偶然性（occasion）（基线对随后的测量时机），作为个体内的因子。功效的证据可通过根据偶然相互作用进行的显著分组表明。可使用精确统计法，分析各组在分类测量之间的差异，以最大化功率（power）。

可使用其中合适的协方差分析和线性回归模型，控制混淆变量的影响。根据假定的测量时机之间 50% 共有的差异（也即， $r = 0.70$ ），检测从基线到第 36 周各组之间的改变中标准偏差差异的影响的功率将为大约 80%，如果每组征集 15 个个体。因为在类似的群体中，已经观察到了 15% 的损耗率，征集 18 个患者到每个组中。

该计划还包括对测量结果的子集分析，其中通过基线的中值 ADAS-Cog 分数，把群组分成 2 个相等大小的组，产生受到不太严重影响的子集，和受到较严重影响的子集。

实施例 15

结果

个体征集和人口分布

从 2000 年 4 月，在 12 个月的时间内，征集 36 个个体。这些个体中，33 个完成了该研究。每个组失去 2 个个体。在空白对照剂组中，1 个患者死亡，另一个退出，因为与 AD 无关的疾病。在治疗组中，1 个个体退出，因为与 AD 相关的行为改变（偏执狂，不合作，拒绝测试）。1 个个体不包括在分析中，因为 AD 的最初诊断大概是不正确的；症状和征兆逐步发展成弥漫性雷维小体疾病所特有的状况。

这些组在超过基线的任何人口统计，生物学和临床参数方面没有不同，除了在发病前的 IQ 测试中治疗组分数较低（ $p=0.02$ ）（来源于 NART）。NART 接着参与分析作为共同变量，而且发现在任何时候都不显著。

对认知衰退的影响

功效的初级临床结果，根据 ADAS-Cog 判断，显示了 2 组之间的趋势。在图 1A 中，该趋势表明认知功能衰退速度的减缓。根据基线 ADAS-Cog 中值，把群体分为较低或较大影响组（值 <25 ， ≥ 25 ），证明了 CQ 对防止受到较严重影响的组中认知衰退的显著影响。这示例于图 1B 中。

对血浆 $A\beta$ 的影响

对血浆 $A\beta_{42}$ 的测量显示从 20 周向前，CQ 治疗组中血浆 $A\beta_{42}$ 非常显著的降低；同时，在空白对照剂组中血浆 $A\beta_{42}$ 增加。这示例于图 2A 中。这些改变在受到不太严重影响的个体中更明显，如图 2B 所示，在这些个体中， $A\beta_{42}$ 的绝对水平倾向于高于受到较严重影响组的 $A\beta_{42}$ 绝对水平。

对血浆 $A\beta_{40}$ 水平的分析显示总的类似的趋势，在受到不太严重影响的组中，于第 8, 32 和 36 周观察到空白对照剂和 CQ 组之间具有显著差异。

对血浆锌和铜的影响

如图 3A 所示,施用 CQ 与总的血浆锌的显著上升相关,但是对血浆铜没有影响,如图 3B 所示。铜的平均绝对水平 ($13.1\mu\text{M/l}$) 在年龄相关的正常范围内 (Rahil-Khazen et al., Clin. Chem. Lab. Med. 38 (8): 765-772, 2000)。

CQ 的血液水平

在 250, 500 和 750 mg 的总每天剂量时, CQ 的稳定状态 (基础) 水平分别为 4.03 ± 2.10 , 6.74 ± 3.70 , $7.60\pm 2.15\mu\text{g/ml}$, 而且显示不与 ADAS-Cog 结果, 金属水平或 A β 水平显著相关。

安全结果和分析

存在总共 131 个报告的可归因事件, 治疗组中 61 个, 空白对照剂组中 50 个。每个个体的离散事件平均数, 在两组之间没有显著地差异。结果总结于表 1 中。5 个患者发生严重的有害事件 (SAE)。记录了 4 个无可归因的 SAE。有一个由于颅内出血死亡 (空白对照剂), 3 个由于臀部疼痛 (空白对照剂), 由于削弱的心脏功能昏厥 (CQ) 和混乱 (空白对照剂) 而住院治疗。

表 1 在任何一组中风险大于 10%，或点估计风险比率大于 2.0 或者小于 0.5 的可归因有害事件

	治疗剂 (n = 18)	空白对照剂 (n = 18)	相对风险 (95% CI)
心血管的			
体位性低血压	12	11	1.09 (0.67, 1.79)
体位性心动过速	12	8	-
体位性眩晕	7	3	2.33 (0.71, 7.63)
具有 +1 体位性症状的受试者	13	14	0.93 (0.64, 1.36)
神经学上的			
损害神经传导	3	1	3.0 (0.34, 26.2)
损害反射	1	2	0.5 (0.05, 5.04)
脚麻痹	2	0	-
具有 =1 神经学上症状的受试者	6	4	1.5 (0.51, 4.43)
胃肠的			
腹泻	1	4	0.25 (0.03, 2.02)
便秘	2	0	-
恶心	2	0	-
腹痛	2	1	2.0 (0.2, 20.1)
具有 =1 胃肠症状的受试者	5	4	1.25 (0.4, 3.91)
泌尿生殖的			
微量蛋白尿	5	5	1.00 (0.35, 2.87)
血液学的			
淋巴细胞减少	0	3	
肝功能试验			
升高的 γ GT	2	1	2.0 (0.2, 20.1)
升高的胆红素	2	0	-
具有 =1 异常的肝功能试验的受试者	4	1	4.0 (0.49, 32.4)
其它的			
降低的维生素 B12	0	2	-
每个受试者离散的不利事件的平均值 (SD)	3.38 (61/18)	2.78 (50/18)	平均差 (95%CI):
(标准差) 每一受试者	(2.14)	(1.48)	0.611 (-0.64, 1.89)
			p= 0.327

心脏安全

体位心功能不全的症状是常见的，27/36 (75%)的个体反映了该本性的至少一个症状。两组之间没有显著的差异，如表 1 所示。

胃肠安全

患者对 CQ 不太可能发生腹泻，但是更可能证明在肝功能试验 (LFT) 中的改变。在 LFT 改变组中也观察到了该差异。在 CQ 组中， γ -GT, AST, ALT 和胆红素显示较小的显著上升，白蛋白显著地降低。这可通过两组之间 γ -GT 和 ALT 改变的显著差异反映出来。没有个体发生削弱的肝功能的任何明显的症状或征兆，而且在第 24 周注意到的改变在第 36 周恢复正常。

血液学安全

CQ 治疗个体中没有有害的血液学事件。不过，在 CQ 组中，第 24 周 (6.88 g/dl; 2.73, 看看 11.0, $p = 0.003$) 和第 36 周 (5.5 g/dl; 0.72, 10.27, $p = 0.03$) 观察到血红蛋白显著减少。在第 24 周，两组之间存在显著差异 ($F = 6.135$, $P = 0.02$)。临床上不相干的血色素减少的性质是不确定的，尽管没有转变为平均细胞体积，两个组中维生素 B12 或血清叶酸水平没有降低。

神经病学安全

神经病学测试的结果总结于表 2 中。神经学症状或征兆是罕有的。个体对 CQ 具有增加的显示异常神经传导的风险，但是对神经传导数据的详细分析显示，尽管到第 36 周两个组中腓肠和腕反应时间 (latency) 显著地降低，两组之间任何神经传导参数都没有显著差异。研究的 2 个组之间，如通过麦克尼马尔检验评定的，视觉灵敏度，色觉，视野或 fundoscopic 异常损伤的风险没有显著差异。

表 2 从基线到第 20 和第 36 周，外周神经反应时间的组内改变

		平均	标准 偏差	标准误 差平均 值	较 低 差 异的 95% 置信区	上的	t	df	Sig. (信号) (2 截 尾的)
组 1	腓肠反应时 间(基线)- 腓肠反应时 间(20周)	.5750	.5310	.1328	.2920	.8580	4.331	15	.001
组 2	腓肠反应时 间(基线)- 腓肠反应时 间(36周)	.7937	.6308	.1577	.457	1.1299	5.033	15	.000
组 3	腕 1 反应时 间 1 周-腕 1 反应时间 20 周	.5824	.8925	.2165	.1235	1.0412	2.690	16	.016
组 4	腕 1 反应时 间 1 周-腕 1 反应时间 36 周	.7875	.8277	.2069	.3464	1.2286	3.806	15	.002
组 5	腕 2 反应时 间 1 周-腕 2 反应时间 20 周	1.000E -01	.3229	8.338E -02	-7.8834 E-02	.2788	1.199	14	.250
组 6	腕 2 反应时 间 1 周-腕 2 反应时间 36 周	.2429	.4327	.1157	-6.9920 E-03	.4927	2.100	13	.056

随机药物=氯碘羟奎

		平均	标准 偏差	标准误差 平均值	较低差异 的95%置信 区	上的	t	df	Sig. (信号) (2 截 尾的)
组 1	腓肠反应时间 (基线)-腓肠 反应时间(20 周)	.7476	.6556	.1693	.3836	1.1097	4.411	14	.001
组 2	腓肠反应时间 (基线)-腓肠 反应时间(36 周)	.9867	.4673	.1207	.7279	1.2455	8.177	14	.000
组 3	腕1反应时间 1周-腕1反应 时间20周	.3313	.8677	.2169	-.1311	.7936	1.527	15	.148
组 4	腕1反应时间 1周-腕1反应 时间36周	.5063	.8668	.2167	4.438E-02	.9681	2.336	15	.034
组 5	腕2反应时间 1周-腕2反应 时间20周	1.250E -02	.2705	6.762E -02	-.1316	.1566	.185	15	.856
组 6	腕2反应时间 1周-腕2反应 时间36周	.1688	.5003	.1251	-9.7837E -02	.4353	1.349	15	.197

随机药物=安慰剂

不是对本发明范围的限制，4周时的峰值可能表明，使用较高的剂量范围，可获得甚至更大的认知功能改善。

本纵向研究是第一个，其在一段延长的时间内跟踪受影响的个体，而且公开了血浆 AB 水平的渐进的降低或保持。它也是第一个表明，特定的金属结合剂可提高并从而恢复血浆锌水平到正常的年龄相当的值。

本领域的技术人员将理解，除了具体描述的那些，这里描述的本发明可进行改变和改进。应当理解，本发明包括所有的这种改变和改

进。本发明还包括该说明书中涉及的或表明的所有步骤，特征，组合物和化合物，分别地或共同地，和任何两个或多个所述步骤或特征的任何和所有的组合。

参考资料

Beyreuther K, Christen Y, Masters CL (eds) Neurological Disorders: Loss of Function Through Gain of Function. Springer. Berlin. 2001.

Bush AI, Masters CL. Clioquinol's return. Science 292 : 2251-2252, 2001.

Cherny RA, Atwood CS, Xilinas ME et al. Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits β -amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. Neuron 30 : 665-676, 2001.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. J. Psychiatr. Res. 12. 189-198, 1975.

Games, D ; Adams, D ; Alessandrini, R ; Barbour, R ; Berthelette, P; Blackwell, C; Carr, T; Clemens, J; Donaldson, T; Gillespie, F. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice over-expressing V717F beta-amyloid precursor protein. Nature. 373 (6514) : 523-527, 1995.

Goodman and Gilman's "The Pharmacological Basis for Therapeutics" (7th Ed., 1985).

Gurney, M E; Pu, H; Chiu, A Y; Dal Canto, M C; Polchow, C Y; Alexander, D D ; Caliendo, J; Hentati, A; Kwon, Y W; Deng, H X. Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu,

Zn superoxide dismutase mutation. Science 264 (5166) : 1772-1775, 1994.

Hsiao, K. , Chapman, P. , Nilsen, S. , Eckman, C. , Harigaya, Y. , Younkin, S. , Yang, F., Cole, G. Correlative memory deficits, A β elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. Science 274(5284): 99-102, 1996.

Masliah, E; Rockenstein, E; Veinbergs, I; Mallory, M; Hashimoto, M; Takeda, A; Sagara, Y; Sisk, A; Mucke, L. Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurological disorders. Science 287 (5456) : 1265-1269, 2000.

McKhann G, Drachman D, Folstein MF, Katzman R, Price D, Stadlen E. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of the Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. Neurology 34 : 939-944, 1984.

Petersen, R. C, Stevenas, J. C. , Ganguli, M. , Tangalos, E.G., Cummings, J. L. , and DeKosky, S. T. Practice parameter: Early detection of dementia: Mild cognitive impairment. Neurology 56: 1133-1142, 2001.

Rahil-Khazen R, Bolann BJ, Ulvik RJ. Trace element reference values in serum determined by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Clin Chem Lab Med; 38 (8): 765-772, 2000.

Reddy, P H; Williams, M ; Charles, V; Garret, L; Pike-Buchanan, L; Whetsell, W O Jr; Miller, G; Tagle, D A. Behavioural abnormalities and selective neuronal loss in HD transgenic mice expressing mutated full-length HD cDNA. Nat Genet. 20 (2) : 198-202, 1998.

Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition, Williams & Wilkins, Pennsylvania, USA.

Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, Mohs R, Friedhoff LT. A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of 多奈哌齐 in patients with Alzheimer's disease. 多奈哌齐 Study Group. Neurology 50 : 136-145, 1998.

Rosen WG, Mohs RC, Davis KL. A new rating scale for Alzheimer's disease. Am J Psychiatry 141 : 1356-1364, 1984.

Selkoe, D. J. Alzheimer's disease: genes, proteins and therapy. Physiol Rev 81 (2) : 741-766, 2001.

St George-Hyslop, P. H. Molecular genetics of Alzheimer's disease. Biol. Psychiatry 47 : 183-199, 2000.

Telling, G C; Scott, M; Hsiao, K K; Foster, D; Yang, S L; Torchia, M; Sidle, K C; Collinge, J; DeArmond, S J; Prusiner, S B. Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease from humans to transgenic mice expressing chimeric human-mouse prion protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91 (21) : 9936-9940, 1994.

White et al., J Neuroscience 18 : 6207-6217, 1998.

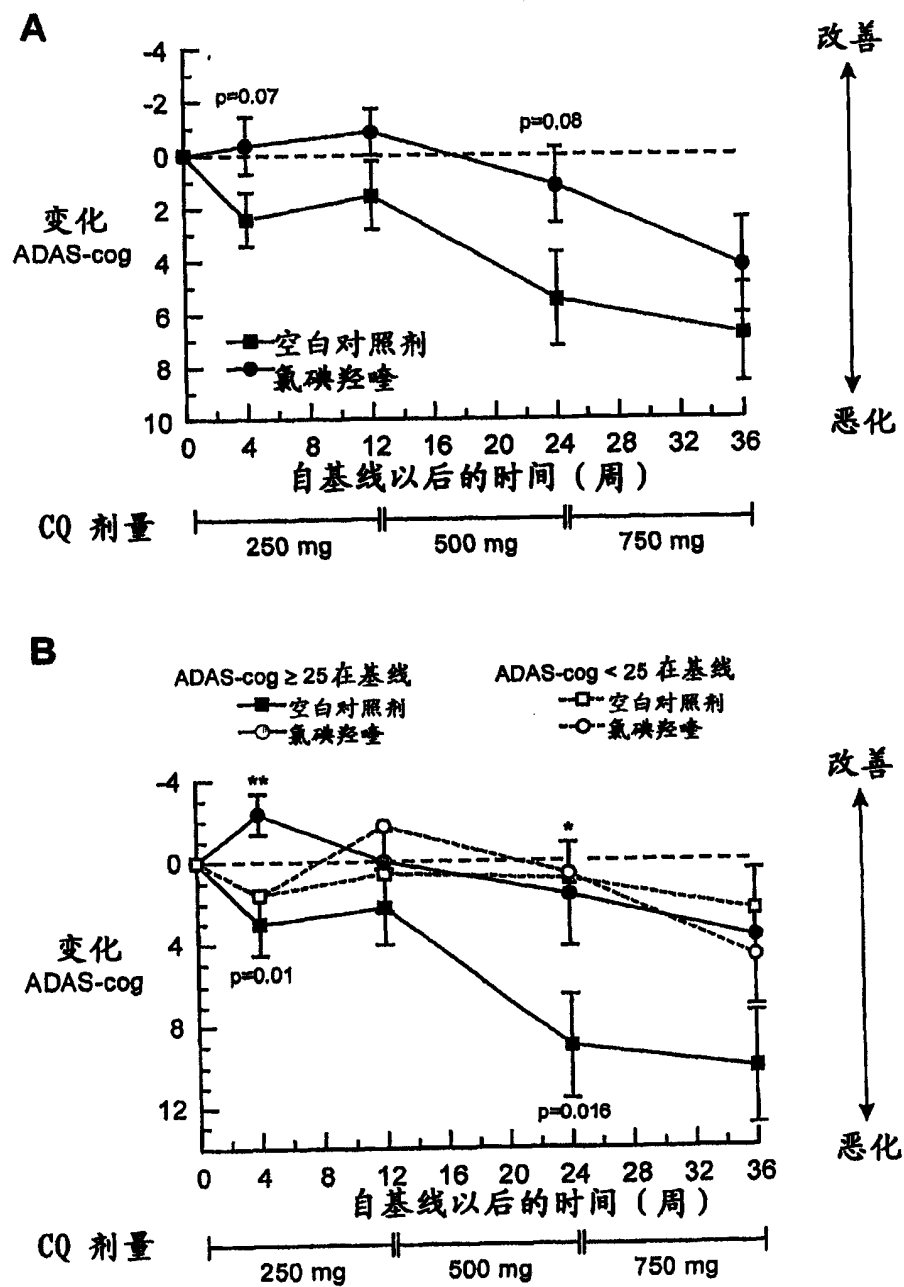


图1

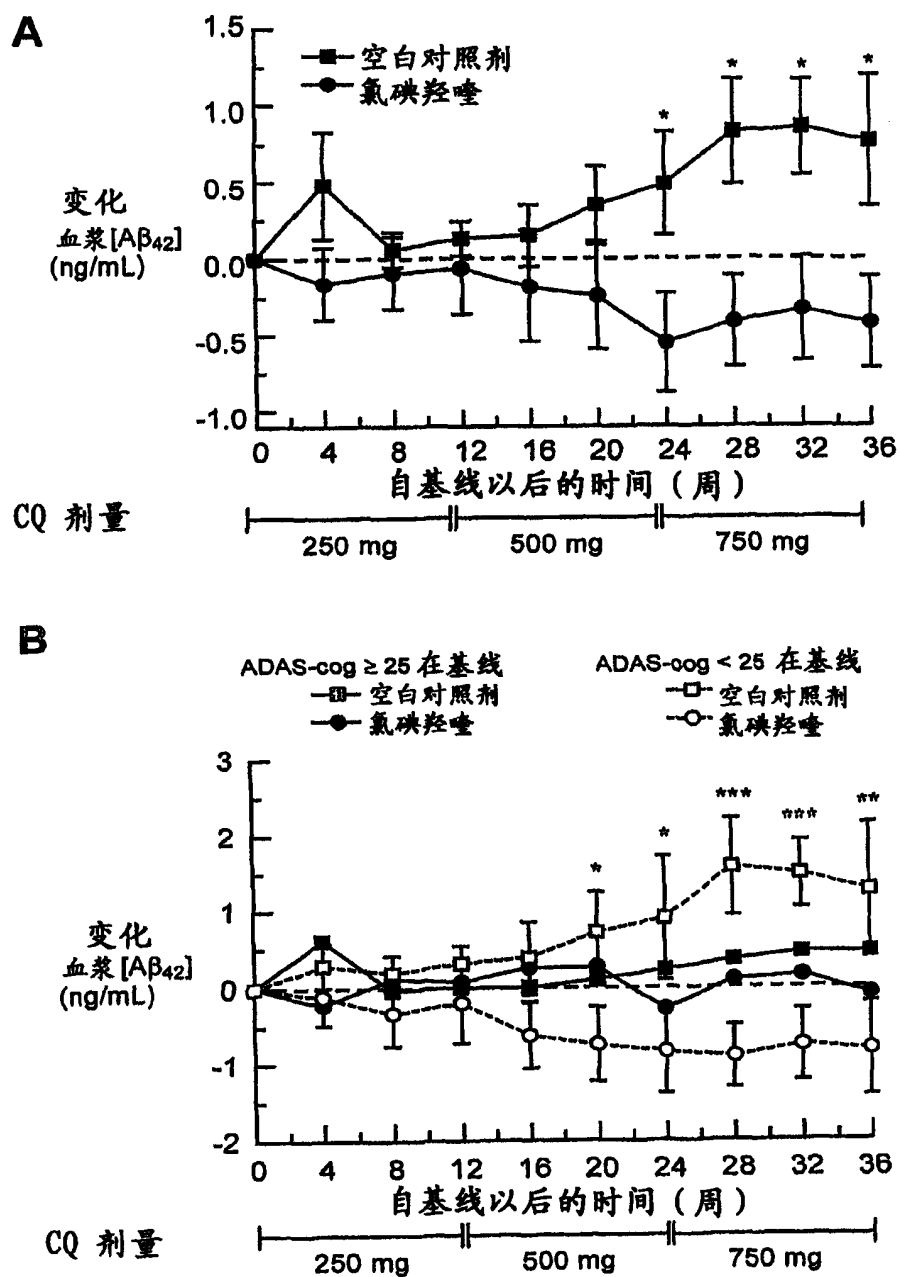


图2

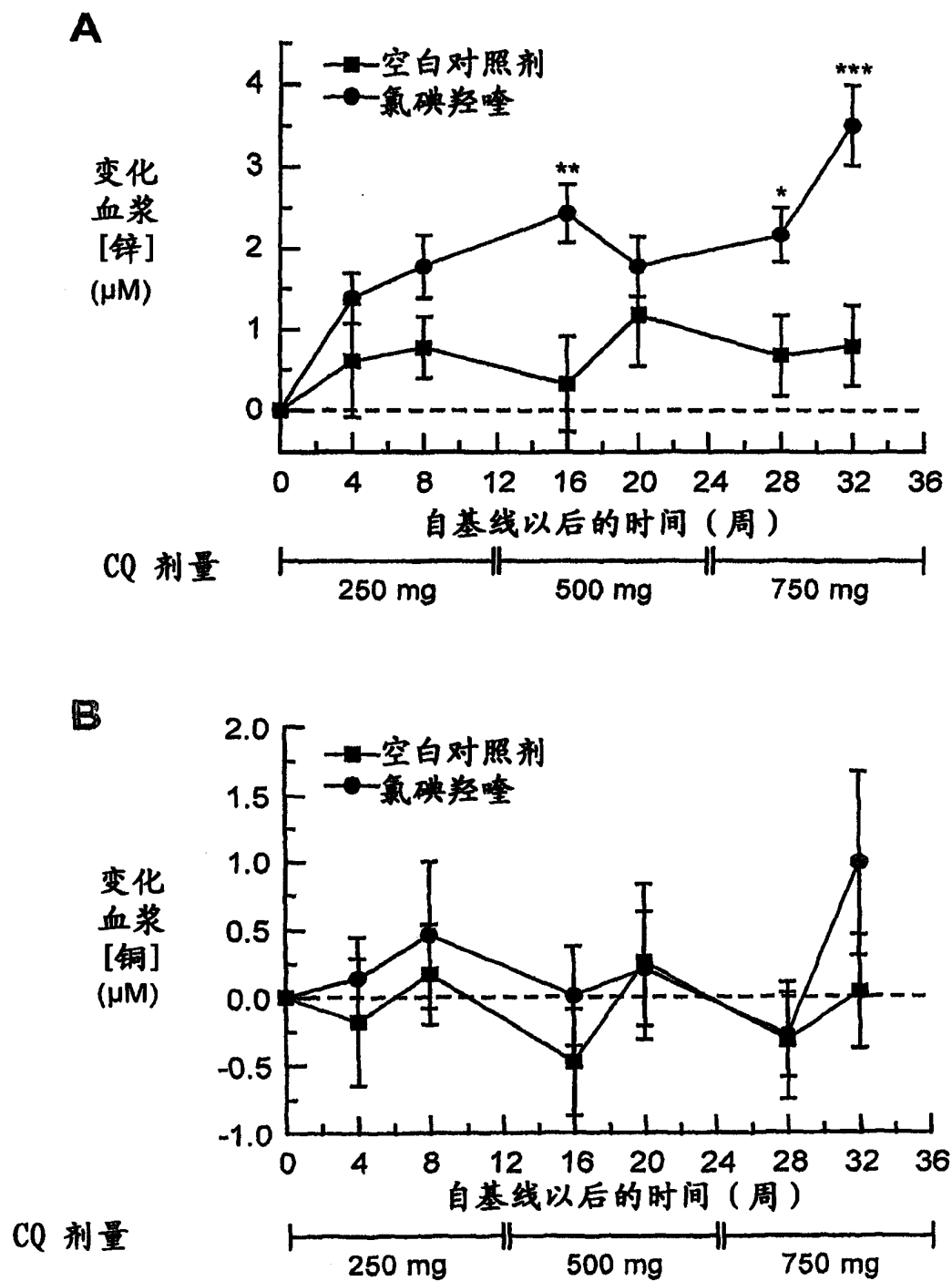


图 3